



**FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES DES DENREES ALIMENTAIRES
SECTEUR DE MICROBIOLOGIE**

**PERTINENCE DES INDICATEURS DE CONTAMINATION FECALE
POUR SURVEILLER ET MAITRISER LA CONTAMINATION
PAR *SALMONELLA* ET *CAMPYLOBACTER*
DANS LES FILIERES BELGES DE PRODUCTION DE VIANDE**

**RELEVANCE OF INDICATORS OF FECAL CONTAMINATION
FOR THE SURVEILLANCE AND CONTROL OF THE CONTAMINATION
WITH *SALMONELLA* AND *CAMPYLOBACTER*
IN THE BELGIAN MEAT PRODUCTION CHAINS**

Yasmine GHAFIR

**EXTRAITS DE LA THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION
DU GRADE DE DOCTEUR EN SCIENCES VETERINAIRES**

ANNEE ACADEMIQUE 2007-2008

Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège

4000 Liège (Belgique)

D/2008/0480/17

ISBN 978-2-930404-52-3



AVANT-PROPOS

Transposée au droit alimentaire, la réflexivité se réfère à l'indispensable démarche de réflexion des gestionnaires d'un système sur ses arcanes, ses normes, son efficience et ses incidences, en vue de l'adapter itérativement et de l'infléchir selon des objectifs collectivement (re)déterminés.

Stéphanie MAHIEU

Dès le Moyen Age, au-delà de la peur de la famine, une préoccupation importante est d'éviter les périls qui peuvent survenir de la consommation de viande. En 1303, la charte de Mirepoix se soucie déjà de sécurité alimentaire et de santé publique sans négliger les impératifs commerciaux en précisant que seules les viandes bonnes, utiles et non malades peuvent être vendues (Ferrières, 2002).

Le domaine de la santé des animaux constitue évidemment toujours aujourd'hui un facteur important de la sécurité alimentaire. En effet, certaines maladies affectant les animaux sont des zoonoses, ce qui signifie qu'elles peuvent être transmises à l'homme notamment par l'ingestion d'aliments d'origine animale contaminés. Certaines sont rencontrées depuis des siècles (tuberculose, salmonellose, campylobactériose par exemple) et d'autres sont des maladies émergentes (influenza aviaire par exemple).

La Commission européenne vise la maîtrise des risques alimentaires - le risque étant défini comme une fonction de la probabilité et de la gravité d'un effet néfaste sur la santé, du fait de la présence d'un danger - tout en assurant la libre circulation des aliments sûrs, avec comme objectif un niveau élevé de protection de la santé des personnes et des intérêts des consommateurs (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2002). Ceci va de pair avec une surveillance des agents zoonotiques et de l'hygiène à tous les stades de production de viande, avec une détermination de la situation nationale, et avec une détermination de critères ou d'objectifs à atteindre.

Dès 1997, l'Institut d'expertise vétérinaire - et par la suite l'Agence fédérale pour la sécurité alimentaire - a mis sur pied une surveillance des bactéries zoonotiques dans le secteur de la viande belge, en collaboration avec l'Université de Gand, l'Institut scientifique de santé publique et le Laboratoire national de référence en microbiologie des denrées alimentaires d'origine animale de l'Université de Liège. Ce dernier a collecté, traité et rapporté les résultats de cette surveillance. C'est dans ce cadre qu'a débuté cette thèse.

Salmonella et *Campylobacter* font l'objet d'un intérêt particulier, parce qu'il s'agit des deux principaux agents bactériens incriminés dans les toxi-infections d'origine alimentaire (en termes de nombre de cas totaux et de nombre d'hospitalisations).

L'introduction de cette thèse fait le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. Elle décrit, d'une part, les principaux agents pathogènes pour l'homme transmis par les denrées alimentaires d'origine animale en Europe et aux USA, dont *Salmonella* et *Campylobacter*, ainsi que leurs éventuels germes index. D'autre part, elle examine les modalités envisageables pour mettre en place des plans de surveillance des denrées alimentaires d'origine animale.

La première partie de cette étude propose aux autorités belges des plans de surveillance des filières de production et de transformation des viandes. Ces plans visent le choix des agents pathogènes devant faire l'objet d'un monitoring, et le choix de la méthodologie d'échantillonnage et d'analyse.

Dans le cadre de la modification du contexte réglementaire européen, la deuxième partie de cette étude vise l'évaluation de la pertinence de la méthode belge de prélèvement sur les carcasses de porc par rapport à la méthode de référence européenne.

Dans la troisième partie de cette thèse, l'évolution de la contamination par *Salmonella* et *Campylobacter* des viandes de bovin, de porc et de volaille est étudiée. Dans ce cadre, la notion d'échantillonnage couvre le prélèvement de l'échantillon tout en tenant compte de la représentativité de l'échantillon dans la population (il est donc caractéristique du lot d'où il provient).

La quatrième partie de cette étude est consacrée à la surveillance des indicateurs d'hygiène des procédés dans les denrées alimentaires d'origine animale. L'objectif est de juger, d'une part, de la pertinence du suivi des principaux indicateurs de l'hygiène et des bonnes pratiques lors des processus de transformation et, d'autre part, de leur qualité d'index des principaux agents pathogènes non sporulés d'origine digestive.

Il est important de préciser que la notion d'échantillonnage telle que décrite dans les deuxième, troisième et quatrième parties correspond uniquement au prélèvement des échantillons.

Cette étude fournit des outils utilisés pour l'évaluation et de la gestion du risque, tout en accordant une attention particulière à la réflexivité avec pour objectif une adaptation aux changements et évolutions de la contamination de la viande par les agents zoonotiques.

Il est évident qu'une maîtrise totale de la contamination par des agents microbiologiques, aboutissant au « risque zéro », n'est pas envisageable. La maîtrise dont il s'agit dans cette étude correspond à atteindre un risque acceptable, tel que le considère François Ewald : « On peut se livrer aux calculs de risques les plus complexes, on en arrivera, en fin de compte, à cette conclusion qu'un risque acceptable est un risque accepté » (Ewald, 1986).

REMERCIEMENTS

Cette thèse est le résultat d'un long parcours et doit sa concrétisation à des rencontres enrichissantes et des collaborations fécondes. Il a débuté grâce au soutien de l'Institut d'expertise vétérinaire pour le Laboratoire national de référence de microbiologie des denrées alimentaires de l'Université de Liège, et qui s'est poursuivi grâce au support de l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire.

Je tiens tout d'abord à remercier mon promoteur, le Professeur Georges Daube, pour son inlassable énergie, ses encouragements indispensables, son aide précieuse et son optimisme à toute épreuve. Je lui suis reconnaissante de m'avoir donné la magnifique opportunité de réaliser cette thèse, de m'avoir donné la chance de progresser et d'enrichir ma recherche par ses commentaires très justes lors de nos intéressantes discussions. Je remercie également le Professeur Henri Vindevogel qui, en tant que chef de service, a accueilli les premiers pas de cette recherche et pour son rôle important dans la création du Laboratoire national de référence.

J'adresse aussi mes remerciements au Professeur Pierre Lekeux qui m'a permis, à mes débuts à la faculté de médecine vétérinaire, de m'initier à la recherche, au Professeur Antoine Clinquart et au Professeur Guy Maghuin-Rogister pour leur confiance, au Professeur Etienne Thiry et au Docteur Bernard China, membres du comité de thèse, et à toutes les personnes qui, en passant quelques temps au département des sciences des denrées alimentaires de la faculté de médecine vétérinaire, ont participé au bon déroulement de mes recherches et à leur aboutissement. Je remercie tout spécialement Jean-Yves François, Annick Bosseloir, Pascal Klüm et toutes les personnes qui ont participé à la réalisation des analyses.

C'est également grâce à la collaboration fructueuse avec l'Université de Gand, et en particulier le Professeur Lieven De Zutter, et l'Institut scientifique de Santé publique, et en particulier le Docteur Katelijne Dierick, que ce travail a pu être réalisé, et je les en remercie. Je soulignerai également la collaboration enrichissante avec le Professeur Mieke Uyttendaele de l'Université de Gand, le Docteur Lieve Herman de l'Instituut voor Landbouw en Visserijonderzoek, le Docteur Jean-Jacques Dubois du Conseil supérieur de la Santé. Je remercie également les nombreuses personnes de l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire pour leur aide, leur soutien et leur collaboration, ainsi que tous ceux qui, en périphérie de ma recherche, ont participé à son bon déroulement et à son aboutissement.

Mes plus vifs remerciements vont enfin à mes proches, et en particulier mes parents, mon époux et mes enfants, sans le soutien de qui ce travail n'aurait pu voir le jour, pour leur immense confiance, leur grande patience et leur compréhension.

A Jean-François, Marie-Amélie et Ségolène,

TABLE DES MATIERES

Avant-propos	3
Remerciements	6
Table des matières	8
Liste des tableaux	10
Liste des figures	11
Liste des abréviations	12
Résumé	13
Summary	16
1 Introduction	20
1.1 Principales bactéries zoonotiques, index et indicatrices dans la filière viande	21
1.1.1 Bactéries index et indicatrices dans la filière viande	21
1.1.2 Agents pathogènes responsables de toxi-infections d'origine alimentaire	24
1.1.3 Toxi-infections d'origine alimentaire.....	33
1.2 Plans de surveillance des microorganismes dans les denrées alimentaires.....	42
1.2.1 Plans de surveillance des denrées alimentaires d'origine animale.....	42
1.2.2 Méthodes de prélèvement.....	46
1.2.3 Méthodes d'analyse.....	50
1.2.4 Réglementation des programmes de contrôle et de surveillance	54
2 Objectifs	60
3 Méthodologie	63
4 Résultats	68
4.1 Surveillance d' <i>E. coli</i> O157, de <i>Yersinia enterocolitica</i> et de <i>Listeria monocytogenes</i>	68
4.2 Plans de surveillance belges pour déterminer les changements de prévalence de <i>Salmonella</i> dans la viande à différentes étapes de la production	73
4.3 Plans de surveillance de la contamination par <i>Campylobacter</i> à différentes étapes de la production de viande en Belgique	77
4.4 Adaptation des plans de surveillance des carcasses de porcs au contexte européen	81
4.5 Surveillance des germes indicateurs d'hygiène des procédés dans les denrées alimentaires d'origine animale en Belgique.....	84

5	Discussion générale.....	88
6	Conclusions	108
7	Perspectives	111
8	Références bibliographiques	113

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. : Importances relatives des toxi-infections alimentaires	27
Tableau 1.2. : Taux de contamination des denrées alimentaires par <i>Campylobacter</i> et <i>Salmonella</i> au stade de la distribution.....	36
Tableau 1.3. : Flores bactériennes, méthodes d’analyse et d’échantillonnage utilisées pour les carcasses de bœufs, porcs et volailles à l’abattoir.....	38
Tableau 1.4. : Flores bactériennes, méthodes d’analyse et d’échantillonnage utilisées pour les viandes de bœufs, porcs et volailles au stade de la transformation et de la distribution..	40
Tableau 1.5. : Objectifs et échantillonnage utilisées pour les carcasses de bœufs, porcs et volailles à l’abattoir	43
Tableau 1.6. : Objectifs et échantillonnage utilisés pour les viandes de bœufs, porcs et volailles au stade de la transformation et de la distribution	45
Tableau 1.7. : Méthodes reconnues par l’Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire pour les principales flores indicatrices dans les denrées alimentaires d’origine animale (en date du 7/1/2008)	51
Tableau 1.8. : Méthodes reconnues par l’Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire pour les principales flores pathogènes dans les denrées alimentaires d’origine animale (en date du 7/1/2008).....	52
Tableau 3.1. : Types d’échantillons prélevés et agents pathogènes recherchés de 1997 à 1999 et années durant lesquelles ces analyses ont été réalisées.....	64
Tableau 3.2. : Types d’échantillons prélevés et agents pathogènes recherchés de 2000 à 2006 et années durant lesquelles ces analyses ont été réalisées	65
Tableau 3.3. : Types d’échantillons prélevés et agents pathogènes recherchés de 2000 à 2003 et années durant lesquelles ces analyses ont été réalisées	66
Tableau 4.1. : Résultats de la recherche d’ <i>E. coli</i> entérohémorragiques de sérotype 0157 de 2000 à 2006	68
Tableau 4.2. : Résultats de la recherche de <i>Yersinia enterocolitica</i> en 1997	69
Tableau 4.3. : Résultats de la recherche de <i>Yersinia enterocolitica</i> de 2004 à 2006	70
Tableau 4.4. : Résultats de la recherche de <i>Listeria monocytogenes</i> de 2000 à 2006	71
Tableau 4.5. : Résultats de la recherche de <i>Salmonella</i> de 2004 à 2006.....	76
Tableau 4.6. : Résultats de la recherche de <i>Campylobacter</i> de 2004 à 2006	80

LISTE DES FIGURES

Figure 5.1.: Zones d'écouvillonnage des carcasses de porcs et bovins.....	89
Figure 5.2. : Résultats du dénombrement d'E. coli (ECC) et des germes aérobies totaux (ACC) par les méthodes de prélèvement par écouvillonnage et par méthode destructive (carcasses de porcs, étude 3 ; médiane \pm écart-type)	90
Figure 5.3. : Prévalence de Salmonella et Campylobacter par les méthodes de prélèvement par écouvillonnage et par méthode destructive (carcasses de porcs, étude 3)	91
Figure 5.4. : Prévalence de Salmonella dans les échantillons de porc, volaille et bœuf entre 2000 et 2006. Pour le même type d'échantillon, les valeurs ayant les mêmes lettres sont significativement différentes (Test de Fisher, $P < 0,05$).	95
Figure 5.5. : Prévalence de Campylobacter dans les échantillons de porc, volaille et bœuf entre 2000 et 2006	96
Figure 5.6. : Estimation semi-quantitative de la contamination par Campylobacter d'échantillons des préparations à base de viande hachée de volaille.....	98
Figure 5.7. : Estimation semi-quantitative de la contamination par Salmonella d'échantillons des préparations à base de viande hachée de volaille.....	100
Figure 5.8. : Résultats des dénombrements d'E. coli dans les échantillons de porc, volaille et bœuf entre 2000 et 2003.....	101
Figure 5.9. : Résultats des dénombrements des germes aérobies totaux (GAT) et des entérobactéries (EC) sur les carcasses de bœuf (bœuf), et les carcasses de porc (porc) (étude 4, méthode non-destructive) comparés aux critères du règlement (CE) n°2073/2005 (méthode destructive) et des critères selon l'avis du Comité scientifique de l'AFSCA (méthode non-destructive).	104
Figure 5.10. : Médiane des dénombrements d'E. coli dans les échantillons où une absence (P50 A SLM) ou une présence (P50 P SLM) de Salmonella a été détectée (* : différence significative, $P < 0,05$)	106

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR	Association française de normalisation
AFSCA	Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire
ALOA	Agar Listeria Ottavani & Agosti
ATPmétrie	Technique de mesure de l'adénosine triphosphate
CFC	Gélose de base pour <i>Pseudomonas</i> supplémentée avec de la céphaloridine, fucidine, et du cétrimide
DIN	Deutsches institut für normung
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EHEC	<i>E. coli</i> entérohémorragiques
FDA	Food and drug administration des Etats Unis d'Amérique
FDA-BAM	Bacteriological analytical manual de la FDA
FSIS	Food safety and inspection service de l'USDA
HACCP	Hasard analysis critical control points
ICMSF	International commission on microbiological specifications for foods of the International union of biological societies
ISO	Organisation internationale de normalisation
m	Limite de satisfaction
M	Limite d'acceptabilité
MSRV	Modified semi-solid Rappaport Vassiliadis
MRD	Maximum recovery diluent
NEN	Nederlands Europese norm, Nederlands normalisatie instituut
NMKL	Nordisk metodikkomitté för livsmedel
PCA	Plate count agar
Stx	Shiga-toxine
ufc	Unité formant colonie
USDA	U.S. Department of Agriculture
VRBA	Violet red bile agar

RESUME

Les toxi-infections d'origine alimentaire ont un impact important sur la santé humaine. Cette étude cible les principaux agents bactériens pathogènes pour l'homme transmis par les denrées alimentaires d'origine animale en Europe et aux USA, à savoir *Salmonella* et *Campylobacter*, ainsi que leurs éventuels germes index.

Globalement, trois types de surveillance permettent de vérifier l'efficacité des mesures prises dans le but de diminuer les zoonoses. La première est le suivi de l'hygiène et d'indicateurs par le dénombrement des flores indicatrices, surtout de contamination fécale. La deuxième est la surveillance d'index pour certains pathogènes tels que *Salmonella* et *Campylobacter*. La troisième est la recherche ou le dénombrement direct des flores pathogènes. Le type de surveillance est déterminé par les objectifs visés.

L'objectif principal de ce travail était de déterminer la pertinence de l'utilisation d'indicateurs de contamination fécale pour surveiller et maîtriser la contamination des filières belges de production de produits carnés par *Salmonella* et *Campylobacter*.

Dans un premier temps, un plan de surveillance des filières de production et de transformation des viandes a dû être mis en place et optimisé. Les différents paramètres à préciser étaient le choix des agents pathogènes devant faire l'objet d'un monitoring dans chacune des filières, et le choix de la méthodologie d'échantillonnage et d'analyse. Cette étude a montré la qualité et la représentativité des plans de surveillance mis en place en Belgique pour la production carnée. Ils permettent en effet de nombreux types d'interprétation des résultats et cadrent parfaitement avec les programmes de contrôle intégrés pluriannuels imposés récemment par la Commission européenne.

Dans un deuxième temps, une étude spécifique a évalué la pertinence de la méthode belge de prélèvement des carcasses de porc (par écouvillonnage) par rapport à la méthode de référence européenne (destructive), qui a fait l'objet d'un nouveau règlement européen fin 2005. Une comparaison entre les deux méthodes pour le dénombrement d'*E. coli* et de germes aérobies totaux ainsi que la recherche de *Salmonella* et de *Campylobacter* a montré l'efficacité de la méthode belge de prélèvement sur les carcasses de porc.

Dans un troisième temps, le plan de surveillance mis en place a permis de suivre l'évolution de la contamination par *Salmonella* et *Campylobacter* des viandes de bovin, de porc et de volaille depuis 2000. Cette étude a confirmé la forte contamination par *Salmonella* et *Campylobacter* des carcasses et viandes de volaille. Elle a également montré la plus faible contamination par *Campylobacter* et, dans une moindre mesure, par *Salmonella*, des échantillons issus de bovins et de porcs. Une diminution significative de la contamination par *Salmonella* de la viande de porc et de la prévalence de *Campylobacter* sur certains échantillons de volaille a été observée entre 2000 et 2003.

Cette étude a également souligné l'importance de disposer de données nationales de contamination par les microorganismes pathogènes des aliments. Elles permettent en effet de suivre l'évolution et de la comparer d'un point de vue international. Ces données pertinentes peuvent être utilisées pour une évaluation quantitative des risques et pour la détermination de critères microbiologiques adaptés.

Dans un quatrième temps, cette étude a évalué la pertinence du suivi des principaux indicateurs d'hygiène et des bonnes pratiques lors des processus de transformation (les germes aérobies totaux, les entérobactéries et les *E. coli*), ainsi que de leur qualité d'index des principaux agents pathogènes non sporulés d'origine digestive. Ce chapitre propose une procédure pour fixer des critères d'hygiène des procédés adaptés à la Belgique pour les carcasses et la viande de bœuf, de porc et de volaille. Cette étude a montré que la situation belge en matière de microorganismes indicateurs est comparable à la situation décrite par plusieurs autres études publiées, et que la méthode de détermination de critères d'hygiène des procédés en se basant sur les résultats des plans de surveillance est à privilégier pour aider le secteur de production à améliorer la qualité microbiologique de ses produits. Cette approche peut aider à la diminution de la contamination par les agents pathogènes d'origine digestive mais ne peut, à elle seule, donner des garanties de maîtrise de ces dangers.

Enfin, il peut être conclu que le dénombrement d'*E. coli* est très utile pour la détermination de l'hygiène des procédés de production de viande en tant qu'indicateur de contamination fécale et en tant qu'index d'agents zoonotiques d'origine intestinale tels que *Salmonella* et *Campylobacter*. Cependant, la recherche, voire le dénombrement direct des agents pathogènes reste nécessaire pour évaluer le risque et s'assurer de l'efficacité des mesures de maîtrise.

L'ensemble des résultats de cette étude et les stratégies appliquées sont également très utiles aux autorités belges dans le cadre de négociations au niveau européen pour la détermination de critères microbiologiques.

Il est donc important que des plans de surveillance adaptés aux exigences réglementaires européennes continuent de suivre l'évolution des agents pathogènes en Belgique en respectant les objectifs fixés au niveau européen. De plus, les critères d'hygiène des procédés doivent être régulièrement revus, sur base des résultats des plans de surveillance. Il faut également tenir compte des indicateurs les plus pertinents pour surveiller et maîtriser la contamination par des microorganismes pathogènes émergents, ou d'autres agents pathogènes. Ces critères d'hygiène des procédés devraient être repris dans les guides d'autocontrôle sectoriels.

La méthodologie de détermination de critères de sécurité des aliments en se basant sur une évaluation quantitative du risque, conformément aux directives du Codex Alimentarius, devrait être développée, standardisée et appliquée aux niveaux européen et belge. Dans ce cadre, disposer de plans de surveillance performants et quantitatifs sera essentiel pour alimenter les modèles à l'échelle de la Belgique.

SUMMARY

Foodborne outbreaks have an important impact on human health. This study focuses the main pathogenic bacterial agents for man transmitted by food from animal origin in Europe and USA, i.e. *Salmonella* and *Campylobacter*, and their potential index bacteria.

Globally, three types of surveillance allow the verification of the effectiveness of measures taken in order to decrease the zoonoses. The first one is the follow-up of hygiene and indicators by the counting of indicator floras, especially of fecal contamination. The second one is the surveillance of index for certain pathogens such as *Salmonella* and *Campylobacter*. The third one is the research or the direct counting of pathogenic flora. The type of surveillance is determined by the focused objectives.

The main objective of this work was the determination of the relevance of the use of indicators of fecal contamination to survey and to control the contamination of Belgian chains producing meat products with *Salmonella* and *Campylobacter*.

As a first step, a surveillance plan of production and transformation meat chains had to be set up and optimised. The different parameters to specify were the choice of pathogenic agents to be monitored in each of the chains, and the choice of the sampling and analysis methods. This study showed the quality and representativeness of the surveillance plans set up in Belgium for meat production. They allow many types of interpretation of the results and tally perfectly with integrated multiannual control programs recently mandated by the European Commission.

In a second time, a specific study evaluated the relevance of the Belgian sampling method of pork carcasses (by swabbing) in comparison with the European reference method (destructive), which has been the subject of a new European regulation end 2005. A comparison between the two methods for *E. coli* and aerobic plate counts and the research of *Salmonella* and *Campylobacter* showed the effectiveness of the Belgian sampling method on pork carcasses.

In a third time, the set up surveillance plan allowed the follow-up of the contamination with *Salmonella* and *Campylobacter* of beef, pork and poultry meat since 2000. This study confirmed the high contamination with *Salmonella* and *Campylobacter* of poultry carcasses and meat. It also showed a comparatively lower contamination with *Campylobacter* and, to a lower extend again, with *Salmonella*, of beef and pork samples. A significant decrease of *Salmonella* contamination in pork and of the prevalence of *Campylobacter* on some poultry samples has been observed between 2000 and 2003.

This study also highlighted the importance of having national data on food contamination with foodborne pathogenic microorganisms. They allow follow up of the changes and comparison on an international scale. These relevant data can be used for a quantitative risk assessment and adequate microbiological criteria.

In a fourth time, this study evaluated the relevance of the follow-up of the main hygiene indicators and good practices during processing processes (aerobic plate counts, *Enterobacteriaceae* and *E. coli*), aswel as of their index quality of the main non-sporulated pathogenic agents from intestinal origin. This chapter proposes a procedure to fix process hygiene criteria adapted to Belgium for carcasses and meat from beef, pork and poultry. This study showed that the Belgian situation on indicator microorganisms is comparable to several other published studies, and that the method of determination of process hygiene criteria based on the results of surveillance plan is to be privileged in order to help the producing sector to improve microbiological quality of its products. This approach may help to decrease the contamination with pathogenic agents of intestinal origin, but can not be used on its own to guarantee the control of their hazards.

Finally, it can be concluded that the counting of *E. coli* is very useful for the determination of hygiene processes of meat production as indicator of fecal contamination and as index of zoonotic agents of intestinal origin as *Salmonella* and *Campylobacter*. However, research, or even direct counting, of pathogenic agents is still necessary to evaluate the risk and to be ensured of the effectiveness of control measures.

The whole of the results of this study and the strategies applied are also very useful within the framework of negotiations at the European level for the determination of microbiological criteria.

It is thus important that surveillance plans adapted to the European lawful requirements continue to follow the evolution of the pathogenic agents in Belgium in accordance with the objectives laid down at the European level. In addition, process hygiene criteria must be regularly re-examined, on the basis of results of the surveillance plans. The most relevant indicators should be used as a tool to prevent the contamination by emergent pathogenic microorganisms, or other pathogenic agents. These process hygiene criteria should be included in the sectional guides of self-checking.

The methodology of determination of food safety criteria based on a quantitative risk evaluation, in accordance with the directives of the Codex Alimentarius, should be developed, standardized and applied to the European and Belgian levels. Within this framework, to have powerful and quantitative surveillance plans will be essential to supply the models at a Belgian scale.

Introduction

1 INTRODUCTION¹

Les toxi-infections d'origine alimentaire ont un impact important sur la santé humaine. Souvent infectieuse et accidentelle, la toxi-infection alimentaire est une maladie contractée suite à l'ingestion de nourriture ou de boisson contaminées par des agents pathogènes qu'il s'agisse de bactéries, virus, parasites ou de prions. Aux USA, le nombre de cas annuels de maladies causées par des agents pathogènes responsables de toxi-infections d'origine alimentaire est estimé à 38,6 millions (Mead et al., 1999). Parmi ceux-ci, 80% seraient dus à des virus, 13% à des bactéries et 7% à des parasites, mais les agents bactériens seraient responsables de 71,7% des mortalités. Les maladies bactériennes gastro-intestinales sont à 80% d'origine alimentaire (Mead et al., 1999). Les deux principaux agents bactériens incriminés dans les toxi-infections d'origine alimentaire (en termes de nombre de cas totaux et de nombre d'hospitalisations) sont *Salmonella* et *Campylobacter*. Viennent ensuite en nombre d'hospitalisations : *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157 entérohémorragique, *Staphylococcus* et *Yersinia enterocolitica*. *Salmonella* (30,6%), *Listeria monocytogenes* (27,6%), *Campylobacter* (5,5%) et *E. coli* O157 entérohémorragiques (2,9%) sont estimés comme étant responsables des plus fortes mortalités aux USA (Mead et al., 1999).

La présente introduction, composée de deux parties, fait le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. La première partie décrit les principaux agents pathogènes pour l'homme transmis par les denrées alimentaires d'origine animale en Europe et aux USA, dont *Salmonella* et *Campylobacter*, ainsi que leurs éventuels germes index. La seconde partie examine les modalités envisageables pour mettre en place des plans de surveillance des denrées alimentaires d'origine animale.

¹ Adapté de l'article « GHAFIR Y., DAUBE G. Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. *Ann. Med. Vet.*, 2007, **151**, 79-100. »

Principales bactéries zoonotiques, index et indicatrices dans la filière viande

Bactéries index et indicatrices dans la filière viande

De nombreuses bactéries sont dénombrées en tant qu'index ou indicateur. Lorsque la présence d'un certain nombre de bactéries dans des aliments indique la présence probable d'agents pathogènes ayant une écologie semblable, on parle d'index (par exemple, *E. coli*). Lorsque leur présence signale simplement le non-respect des bonnes pratiques, on utilise plutôt le terme indicateur (par exemple, les entérobactéries) (Briand, 2007). Le dépassement d'un seuil donné de ces germes peut avoir de multiples origines et significations. Les principales flores index ou indicatrices sont décrites ci-après.

Germes aérobies totaux

Les germes aérobies totaux ne constituent pas une famille bactérienne particulière. Il s'agit des microorganismes formant des colonies dénombrables après leur multiplication dans des conditions de laboratoire définies. Le milieu de culture généralement choisi est le plate count agar (PCA) contenant un digestat enzymatique de caséine, de l'extrait de levure et du glucose. Selon l'ISO 4833 (Organisation internationale de normalisation, 2003a), il est incubé dans les conditions atmosphériques ambiantes à 30°C pendant 72 h, mais d'autres températures (35°C, 37°C) sont parfois utilisées (Mead et al., 1993; Bacon et al., 2000; Berrang et al., 2002; Organisation internationale de normalisation, 2003a; McEvoy et al., 2004; Pearce et Bolton, 2005; Smith et al., 2005; Hutchison et al., 2006).

Par définition, les sources de contamination des denrées alimentaires par les germes aérobies totaux sont très variées : l'environnement, l'animal (flore présente dans l'intestin, sur la peau, la toison, les muqueuses), la contamination croisée avec d'autres carcasses ou aliments, la contamination par le manipulateur. Dans l'aliment cru ou manipulé après traitement, il est normal d'en retrouver une faible quantité. Il peut s'agir d'entérobactéries, de *Bacillus*, staphylocoques, *Pseudomonas*, bactéries lactiques ou d'autres agents éventuellement pathogènes. Leur présence au-delà des limites définies peut signifier un défaut d'hygiène des procédés de fabrication, voire, au-delà de 10^7 ufc/g, un état de putréfaction. Elle peut également être due à une conservation à des températures trop élevées, sauf lorsqu'il s'agit de bactéries psychrotrophes (par exemple les bactéries lactiques, *Pseudomonas*, *Listeria*, *Yersinia*), c'est-à-dire capables de se multiplier à une température inférieure à 10°C. Seul un dénombrement de germes indicateurs plus spécifiques permet de déterminer l'origine de la

contamination. Dénombrés seuls, les germes aérobies totaux sont des agents indicateurs qui donnent peu d'informations.

Pseudomonas

Le genre *Pseudomonas* est constitué de bacilles Gram négatifs, droits ou légèrement incurvés, ayant une taille de 0,5 à 1,0 µm sur 1,5 à 5,0 µm, aérobies, oxydase positifs, non sporulés et généralement mobiles par un ou des flagelles polaires. Certains produisent des pigments hydrosolubles fluorescents ou pyoverdine, de couleur jaune-vert qui ont un rôle de sidérophores. La plupart des espèces sont psychrotrophes. Leur croissance est possible entre 4°C (voire moins) et 43°C (Labadie et al., 1996; Euzéby, 1998-2007).

Les *Pseudomonas* sont ubiquistes et peuvent vivre dans des niches écologiques très diverses. Peu virulentes, plusieurs espèces sont des pathogènes opportunistes pour l'homme et des agents d'altération des viandes, poissons et produits laitiers. Les espèces les plus fréquemment rencontrées chez l'homme sont *Pseudomonas aeruginosa*, *fluorescens*, *putida* et *stutzeri*. (Euzéby, 1998-2007).

Les *Pseudomonas* sont les principales bactéries psychrotrophes retrouvées dans les viandes, le lait et, dans une moindre mesure, les produits végétaux. Présentes dans les aliments, la réfrigération permet leur multiplication et la production d'enzymes protéolytiques et lipolytiques responsables d'altérations. Leur présence au niveau des chaînes d'abattage et en particulier dans les chambres froides constitue une source permanente de contamination des viandes. *Pseudomonas* est principalement utilisé comme indicateur d'altération des viandes fraîches et du lait (Labadie et al., 1996).

Entérobactéries

Les *Enterobacteriaceae* ou entérobactéries appartiennent à une famille de courts bâtonnets Gram négatifs, de 0,3 à 1,0 µm sur 1,0 à 0,6 µm, dont certains sont mobiles au moyen de flagelles péritriches et d'autres immobiles. Non sporulés, ils se multiplient en présence et en absence d'oxygène. Ils possèdent un métabolisme respiratoire et fermentatif et produisent des acides, et souvent du gaz, lors de la fermentation de glucose et d'autres hydrates de carbones.

Il s'agit d'un groupe biochimiquement et génétiquement apparenté, présentant une grande hétérogénéité du point de vue de son écologie, de ses hôtes, et de son potentiel pathogène pour l'homme, les animaux, les insectes et les plantes (Brenner, 1984). Cette famille inclut plusieurs genres et espèces de bactéries pathogènes intestinale (*Shigella*, *Salmonella*, et les souches pathogènes de *Yersinia* et d'*E. coli*). Elle comprend également de nombreux genres présents naturellement dans l'environnement, y compris sur les plantes, sans être d'origine fécale ni associés à des maladies d'origine alimentaire (Euzéby, 1998-2007; Ray, 2001).

Dans les denrées alimentaires d'origine animale, les entérobactéries sont d'origine intestinale ou environnementale. Bactéries indicatrices, elles peuvent signifier un défaut d'hygiène lors des processus de fabrication : une contamination fécale, environnementale, une insuffisance des procédés de traitements, un défaut d'hygiène du matériel et de l'équipement utilisés, ou une contamination croisée d'une autre origine (végétale par exemple). Pour les produits prêts à consommer et conservés sous réfrigération, les entérobactéries peuvent également signifier une conservation à des températures trop élevées ou pendant une durée trop longue. Etant donné les multiples sources de contamination, leur présence en grands nombres dans des produits traités thermiquement et dans les produits prêts à être consommés peut avoir une signification en termes de santé publique (Ray, 2001).

Escherichia coli

Les *Escherichia coli* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Il s'agit de courts bâtonnets mobiles au moyen de flagelles péritriches, Gram négatifs, anaérobies facultatifs, non sporulés. Ils sont capables de fermenter plusieurs sucres, mais leur fermentation du lactose avec production de gaz est caractéristique. La multiplication à 44°C, la production d'indole et la présence d'une activité β -glucuronidase sont également caractéristiques. Les *E. coli* sont sérotypées en se basant sur leurs 173 antigènes somatiques (O), 56 antigènes flagellaires (H) et 80 antigènes capsulaires (K) (Feng, 2001; Eslava et al., 2003).

Etant l'espèce bactérienne anaérobie facultative prédominante dans l'intestin et les fèces, la présence d'*E. coli* dans les aliments et l'eau est considérée comme une indication de contamination fécale et, dès lors, l'indication d'une possible présence de microorganismes pathogènes d'origine fécale (index). La contamination a lieu le plus souvent lors de la production et la transformation d'aliments crus d'origine animale, ou indirectement, via la contamination par de l'eau contaminée. *E. coli* peut être affecté par la dessiccation, la

congélation et un pH bas de façon plus rapide que certains agents pathogènes intestinaux (Feng, 2001; Ray, 2001; Eslava *et al.*, 2003). Dans les filières de production carnée, la principale source de contamination des denrées alimentaires par *E. coli* est le tractus intestinal des animaux. Leur présence correspond à un défaut de la technique d'abattage, ou une contamination croisée, mais peut également être due à une contamination par les personnes manipulant les denrées alimentaires. La contamination croisée et l'absence d'une étape de réduction importante de la contamination bactérienne des carcasses lors du processus d'abattage des volailles entraînent une contamination souvent élevée dans cette filière (Ray, 2001).

Certains *E. coli* sont responsables d'infections digestives ou extra-digestives ; ils font l'objet d'un chapitre ci-après.

Agents pathogènes responsables de toxi-infections d'origine alimentaire

Principaux microorganismes responsables de toxi-infections d'origine alimentaire

En Europe (24 états membres participant au rapportage), les zoonoses transmissibles par les aliments les plus fréquemment mises en évidence sont les campylobactérioses et les salmonelloses (European Food Safety Authority, 2006). En 2005, elles ont, respectivement, augmenté de 7,8% et diminué de 9,5% par rapport aux années précédentes (European Food Safety Authority, 2006).

Les épidémies européennes d'origine alimentaire sont principalement provoquées par *Salmonella* avec comme origines les œufs et la viande de volaille, *Campylobacter* avec comme origine la viande de volaille, et par des virus ayant pour origines la consommation d'eaux de boissons, fruits et légumes contaminés (European Food Safety Authority, 2006). En 2005, jusqu'à 66% des échantillons de viande de volaille fraîche analysés en Europe contenaient des *Campylobacter*. *Salmonella* a été mise en évidence dans de la viande fraîche de volaille et de porc (jusqu'à 18% d'échantillons positifs) et des œufs de table (0 à 6%). Dans ces derniers, on a constaté d'une diminution globale de la contamination par *Salmonella* par rapport aux années précédentes (European Food Safety Authority, 2006).

Dans l'ordre d'incidence décroissant, les épidémies européennes ont ensuite pour cause *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* producteurs de Shiga-toxines, *Brucella* et *Mycobacterium bovis* (European Food Safety Authority, 2006). Seuls 15 Etats membres déclarent des épidémies d'origine virale; leur nombre est donc largement sous-estimé. Les calicivirus, incluant surtout les norovirus, constituent la source la plus fréquente d'épidémies alimentaires non bactériennes et sont responsables de la majorité des cas et hospitalisations. Les épidémies décrites ont généralement lieu dans des restaurants, services de restauration et institutions (écoles et maisons de repos). Une étude danoise (Helms *et al.*, 2003) a montré qu'une infection due à *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica* ou *Shigella*, entraînait l'année suivante une mortalité des personnes touchées 3,1 fois supérieure. Parmi les maladies associées aux aliments, *Campylobacter* a l'impact le plus important en terme de morbidité tandis que *Salmonella* cause le plus de mortalités (Adak *et al.*, 2005).

En Belgique, les épisodes de toxi-infection dus à des norovirus sont rapportés depuis peu : en 2004, une toxi-infection est décrite par Verbelen et collaborateurs (2004) et 4 épisodes sont recensés pour l'année 2006 (Working group on foodborne infections and intoxications, 2008). Comme dans l'ensemble de l'Europe, *Campylobacter* et *Salmonella* sont les agents bactériens pathogènes les plus fréquemment isolés des malades, selon le système sentinelle de surveillance des bactéries (Ducoffre, 2006; National Reference Centre for *Salmonella* and *Shigella*, 2006). Pour la première fois en 2005, le nombre de cas de campylobactérioses (6.879 cas en 2005, et 6.716 cas en 2004) a dépassé le nombre de cas de salmonelloses (9.543 cas en 2004 et 4.916 en 2005) (Ducoffre, 2006; National Reference Centre for *Salmonella* and *Shigella*, 2006). Pour *Campylobacter*, une grande variation entre les régions est observée : l'incidence moyenne en Flandre est de 81 cas par 100.000 habitants, alors qu'elle est de 42 cas par 100.000 habitants en Wallonie (Ducoffre, 2006).

Aux USA, l'incidence de cas d'infections bactériennes mises en évidence en 2005 dans le cadre du réseau de surveillance FoodNet était pour *Salmonella* et *Campylobacter* respectivement de 14,55 et 12,72 par 100.000 habitants (Centers for Disease Control and Prevention, 2006b). Par rapport à la période de 1996 à 1998, on constate une diminution importante pour *Yersinia* (-49%), *Campylobacter* (-30%) et, dans une moindre mesure pour *Salmonella* (-9%). Au niveau des sérotypes de *Salmonella*, seul *S. Typhimurium* est en diminution (-42%), alors que l'incidence de *S. Enteritidis* a augmenté de 25% (Centers for Disease Control and Prevention, 2006b).

En Australie, le nombre de gastro-entérites infectieuses a été estimé à 0,92 épisode par personne et par an, dont 0,29 auraient une origine alimentaire (Hall *et al.*, 2005).

Au Canada, le taux de gastroentérite aiguë est estimé à 1,3 épisodes par personne et par an (Majowicz *et al.*, 2004).

Le tableau 1.1. donne un aperçu chiffré des différentes causes de toxi-infections dans ces pays.

Tableau 1.1. : Importances relatives des toxi-infections alimentaires

Pays	Causes de toxi-infections
Quinze Etats membres (European Food Safety Authority, 2006)	Cent nonante-six toxi-infections sont dues à des calicivirus et 86 à des rotavirus (cela représente 6% des épidémies et 6.812 personnes affectées par an)
Irlande du Nord et République d'Irlande (Scallan et al., 2004)	Six dixièmes épisode de gastroentérite aiguë sont constatés par personne et par an
Pays-Bas (de Wit et al., 2001a; de Wit et al., 2001b; Van Duynhoven et al., 2004)	Cinquante-quatre pourcents des toxi-infections sont dues aux norovirus, 4% à <i>Salmonella</i> , 2% aux rotavirus, 1% à <i>Campylobacter</i> (affectent 28,3% de personnes par an)
Royaume-Uni (Adak et al., 2002; Adak et al., 2005)	Les principaux agents causaux sont les norovirus, <i>Campylobacter</i> et <i>Salmonella</i> (affectent 20% de la population)
France (Institut de veille sanitaire, 2004)	Les 3 principaux microorganismes responsables de toxi-infections d'origine alimentaire sont les norovirus (70.000 cas estimés chaque année), <i>Salmonella</i> (plus de 30.000 cas estimés par an), et <i>Campylobacter</i> (plus de 12.000 cas estimés par an)
Belgique (Ducoffre, 2006; National Reference Centre for <i>Salmonella</i> and Shigella, 2006)	En 2005, 6.879 cas de campylobactérioses (66 cas par 100.000 habitants), 4.916 de salmonelloses (45,2% dues à <i>S. Enteritidis</i> , 33,7% dues à <i>S. Typhimurium</i>), 427 toxi-infections dues à <i>Yersinia enterocolitica</i> , 62 à <i>Listeria monocytogenes</i> , 47 à <i>E. coli</i> O157
USA (Centers for Disease Control and Prevention, 2006b)	Par 100.000 habitants : 14,55 salmonelloses, 12,72 campylobactérioses et 0,36 yersinioses.
Vingt-quatre états-membres (European Food Safety Authority, 2006)	En 2005 : 197.363

	campylobactérioses (51,6 cas par 100.000 habitants) et 176.395 salmonelloses (38,2 cas par 100.000 habitants).
--	--

E. coli

Hôte normal présent en grand nombre dans la flore intestinale de l'homme et des animaux, y compris les oiseaux, certains *E. coli* sont cependant responsables d'infections digestives ou extra-digestives. Il s'agit des *E. coli* pathogènes parmi lesquelles les souches entérohémorragiques – car la principale maladie qu'elles provoquent chez l'homme est la colite hémorragique – ou EHEC dont le sérotype O157 est bien connu. Outre la colite hémorragique, les EHEC peuvent causer de la diarrhée, le syndrome hémolytique et urémique, et le purpura thrombotique thrombocytopénique (Feng, 2001; Ray, 2001). Leurs principaux facteurs de virulence sont les shiga-toxines Stx1 et Stx2, l'intimine et l'entérohémolysine (Paton et Paton, 1998). Les infections sont le plus souvent causées par la consommation de viande de bœuf contaminée et insuffisamment cuite, mais peuvent également être dues à la consommation d'eau, de lait cru, de fruits, légumes, à des baignades, et à des contacts entre personnes... (Feng, 2001)

Salmonella

Salmonella appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les *Salmonella* sont constituées de bacilles droits Gram négatifs, non sporulés, d'une taille de 0,7 à 1,5 µm de large et de 2,0 à 5 µm de long, anaérobies facultatifs. Les bacilles sont généralement mobiles grâce à des flagelles péritriches. Ils produisent généralement des acides et du gaz à partir de glucose et peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone. Ces bactéries croissent à des températures situées entre 8°C et 45°C, mais sont sensibles à la chaleur (Le Minor, 1984; ICMSF, 1996).

Le genre *Salmonella* est divisée en 2 espèces, *S. enterica* et *S. bongori*. *S. enterica* est elle-même subdivisée en 6 sous-espèces, dont les sérovars sont régulièrement rencontrés chez l'homme, dans les produits de l'agriculture et les aliments. La souche-type de ce genre est *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium. Toutes les souches de *Salmonella* sont potentiellement pathogènes pour l'homme, mais certains sérotypes sont particulièrement pathogènes pour l'homme, causant un syndrome typhoïde ; il s'agit de *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi C* et *S. Sendai* (ICMSF, 1996; D'Aoust, 2001; National Reference Centre for *Salmonella* and *Shigella*, 2006). La sous-espèce *enterica* est subdivisée en sérovars ou

sérotypes sur base des antigènes somatiques (O), capsulaires (Vi) et flagellaires (H), conformément au schéma de Kauffmann-White. Plus de 2400 sérotypes sont décrits, mais 20.000 combinaisons sont possibles en se basant sur ce schéma (Le Minor, 1984; ICMSF, 1996; Hanes, 2003; Krauss *et al.*, 2003). Après *S. Typhimurium*, au milieu des années 80, *S. Enteritidis* est devenu le sérotype de *Salmonella* le plus souvent rencontré, en raison de sa transmission verticale de la poule à l'œuf. Plus récemment, *S. Typhimurium* DT104, hautement virulente et résistante à de multiples antibiotiques, a émergé en Europe et aux USA. Ce microorganisme est ubiquitaire dans l'environnement naturel. Sa présence chez les animaux de rente et sur les végétaux est favorisée par l'élevage intensif et l'utilisation d'engrais organiques non traités pour fertiliser les cultures (D'Aoust, 2001).

La pathogénicité des *Salmonella* non-typhoïdiennes est due à leur résistance au pH acide de l'estomac, leur compétition avec la flore normale de l'intestin grêle et à leur franchissement de la barrière épithéliale pour proliférer dans les plaques de Peyer et envahir les ganglions mésentériques. Elles peuvent également atteindre la circulation sanguine et donner lieu à des abcès dans différents tissus, voire une septicémie (ICMSF, 1996; Hanes, 2003).

La volaille, et plus particulièrement les œufs et les carcasses, est la source principale des cas humains de salmonellose. *Salmonella* Enteritidis est le sérotype typiquement présent dans le tractus reproducteur de la poule. Les animaux atteints produisent des œufs contaminés au niveau du vitellus (jaune), de l'albumen (blanc), des membranes ou de la coquille, en raison d'une contamination de la coquille par des fientes ou d'une contamination de la partie interne de l'œuf lors de son passage dans le tractus reproducteur. D'autres sérotypes tels que *Salmonella* Typhimurium sont plus fréquents chez les poulets de chair et, dans une moindre mesure, dans les autres filières de production de viande. La viande de porc et, de façon moins importante, la viande de bœuf sont les autres sources de contamination les plus souvent rencontrées. Les produits végétaux peuvent également être une source de *Salmonella* en raison de l'utilisation d'eau ou d'engrais contaminés (D'Aoust, 2001; De Buck *et al.*, 2004).

Yersinia enterocolitica

Le genre *Yersinia* comprend 11 espèces appartenant aux *Enterobacteriaceae*. Il s'agit de bacilles Gram négatifs, non sporulés, anaérobies facultatifs qui fermentent le glucose. Plus petites que la plupart des autres entérobactéries, elles apparaissent souvent comme des coccobacilles lorsqu'elles se multiplient à 37°C. Ce genre comprend 4 espèces pathogènes bien caractérisées : *Yersinia pestis* responsable des pestes bubonique et pulmonaire, *Y. pseudotuberculosis* pathogène des rongeurs et occasionnellement de l'homme, *Y. ruckeri* provoquant des maladies chez les poissons d'eau douce, et *Y. enterocolitica*, un pathogène intestinal. *Y. pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica* sont les 2 agents pathogènes d'origine alimentaire. Elles atteignent le tractus gastro-intestinal de l'homme et provoquent des entérites, entérocolites, lymphadénites, et rarement des infections extra-intestinales telles que des arthrites. *Y. enterocolitica* est également présente dans l'intestin d'animaux sains tels que des porcs, bovins, chiens et chats (Krauss *et al.*, 2003; Robin-Browne et Hartland, 2003).

L'espèce *Y. enterocolitica* est divisée en plusieurs sous-groupes suivant leur activité biochimique (biotype) et les antigènes O lipopolysaccharides (sérotipe) qu'ils portent. En Europe, la grande majorité des souches responsables d'infections chez l'homme sont du sérotipe 0:3, les autres étant du sérotipe 0:9. Les sérotypes O:8, O:5 et O:27 sont également impliqués dans des pathologies aux USA, Canada ou Japon. *Y. enterocolitica* est psychrotrophe, c'est-à-dire capable de se multiplier à des températures inférieures à 4°C. Sa température optimale de multiplication est cependant de 28-30°C (Krauss *et al.*, 2003; Robin-Browne et Hartland, 2003). L'infection du tube digestif a pour origine l'adhésion et l'invasion des cellules de la lumière intestinale (ICMSF, 1996).

Y. enterocolitica est présente chez une grande variété d'animaux, aliments et eaux, mais les porcs sont le principal réservoir des biosérotypes pathogènes pour l'homme. La plupart des souches isolées d'autres sources ne sont pas pathogènes pour l'homme. La région des amygdales de porcs est une niche écologique ayant une haute incidence de *Y. enterocolitica*. Au niveau des filières de production carnée, une contamination est souvent due à un défaut d'hygiène au stade de l'abattage (ICMSF, 1996).

Campylobacter

Le genre *Campylobacter* est constitué de fins bacilles Gram négatifs incurvés en spirale, non sporulés, parfois en forme de S, d'une taille de 0,2 à 0,5 µm de large et de 0,5 à 5 µm de long. Les bacilles sont mobiles grâce à un flagelle situé à une ou aux deux extrémités de la cellule et ont un mouvement typique de tire-bouchon. *Campylobacter* a un métabolisme de type respiratoire et est micro-aérophile, c'est-à-dire qu'il requiert une concentration en oxygène entre 3 et 15%. Certaines souches peuvent occasionnellement se multiplier dans des conditions d'aérobiose ou d'anaérobiose. Ils sont incapables d'oxyder ou de fermenter les sucres et sont positifs au test de l'oxydase (Smibert, 1984).

Toutes les espèces de *Campylobacter* se multiplient à 37°C, mais les *Campylobacter* thermophiles (*C. jejuni*, *C. coli* et *C. lari*) ont une meilleure croissance à 42°C et ne se multiplie pas à une température inférieure à 25°C. Ces bacilles sont plus sensibles aux conditions défavorables, telles que la dessiccation, la chaleur, l'acidité, les désinfectants ou l'irradiation, que la plupart d'autres bactéries pathogènes intestinales (Hu et Kopecko, 2003). Les différentes caractéristiques de ces microorganismes ont pour conséquence que des méthodes d'analyse spécifiques doivent être utilisées pour leur recherche et dénombrement.

C. jejuni et *C. coli* causent plus de 95% des campylobactérioses. Il s'agit d'une zoonose. Le réservoir en est le tractus intestinal des animaux domestiques et sauvages, particulièrement les oiseaux (Smibert, 1984; Butzler, 2004). La transmission a lieu généralement par la consommation d'aliments (viande de volaille insuffisamment cuite), d'eau, des contacts directs ou la manipulation d'animaux infectés (animaux de boucherie et de compagnie) (Hu et Kopecko, 2003). Le nombre d'infections à *Campylobacter* est clairement plus élevé en été, où plus de 40% des cas humains ont pour origine la volaille, et 20% une origine non alimentaire. Cela a été confirmé lors de la crise de la dioxine qui avait donné lieu au retrait du marché de tous les produits de volailles en été 1999 en Belgique (Vellinga et Van Loock, 2002).

Les mécanismes de virulence de *Campylobacter* ne sont pas encore bien connus. Ils auraient comme composantes des toxines, l'adhérence, la mobilité, la capacité de capter le fer et l'invasion bactérienne. La campylobactériose est due à l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminée et donne lieu à de la fièvre, de la diarrhée et de fortes douleurs abdominales. La guérison a généralement lieu sans traitement, après 2 à 6 jours. Des infections extra-intestinales sont décrites dans 1,5 cas/1.000 infections intestinales. Les conséquences peuvent en être le syndrome de Guillain-Barré (une polyneuropathie inflammatoire aiguë résultant en une paralysie neuromusculaire) et le syndrome de Reiter (une arthropathologie impliquant de multiples articulations) (Hu et Kopecko, 2003; Butzler, 2004).

Campylobacter est fréquemment présent dans le tractus intestinal des volailles, porcs et bovins, mais en raison des techniques d'abattage de cette espèce, la viande de volaille est la principale source de contamination de l'homme (Humphrey *et al.*, 2001; Jorgensen *et al.*, 2002).

Toxi-infections d'origine alimentaire

Sources des toxi-infections bactériennes

Une quantification de la contribution des sources animales et alimentaires, basée sur un modèle mathématique, a montré qu'au Danemark, les œufs et les porcs étaient les sources les plus importantes de salmonelloses domestiques (Hald *et al.*, 2004b). Au Royaume-Uni, les aliments à l'origine des gastroentérites aiguës sont le plus fréquemment le poulet et les œufs (Parry *et al.*, 2002; Flint *et al.*, 2005); le bœuf, l'agneau et le porc contribuent de façon importante à la mortalité (Adak *et al.*, 2005). Le poulet est une source reconnue d'épidémies à *Campylobacter* (Mazick *et al.*, 2006). D'autres types d'aliments d'origine animale sont également contaminés par *Campylobacter*, comme le foie de mouton (66,2%) (Cornelius *et al.*, 2005), la viande crue de bœuf (3,2%), de porc (5,1%), de mouton (11,8%), les huîtres (2,3%) et le lait cru (1,6%) (Whyte *et al.*, 2004). Des épidémies de salmonellose dues à de la viande de bœuf ont également été décrites (Centers for Disease Control and Prevention, 2006a).

La source principale de ces toxi-infections est donc l'alimentation d'origine animale. Ces différents agents bactériens peuvent être des bactéries zoonotiques, c'est-à-dire qu'ils sont susceptibles de se transmettre naturellement des animaux à l'homme. Il s'agit principalement de microorganismes présents dans le tractus gastro-intestinal des bovins, porcs et volailles. La technique d'abattage, la contamination croisée des carcasses à l'abattoir, mais également des viandes lors de la transformation, voire de la distribution, peuvent entraîner une contamination du produit final. En Thaïlande, une étude simultanée réalisée à la ferme, à l'abattoir et sur le marché a montré une contamination par *Campylobacter* de, respectivement, 64%, 38% et 47% pour les poulets, et de 73%, 69% et 23% pour les porcs. Chez les vaches laitières et dans le lait cru, le taux était respectivement de 14% et 5% (Padungtod *et al.*, 2002).

Dans des abattoirs de porcs, une étude belge (Botteldoorn *et al.*, 2003) a montré que la contamination croisée par *Salmonella* est responsable de 29% des carcasses positives et que 25% des échantillons d'environnement de l'abattoir étaient contaminés avant le début des activités. La technique d'abattage des espèces porcine et bovine comporte cependant des étapes de diminution de la contamination bactérienne, à savoir, respectivement, le flambage et l'écorchage. Ces techniques permettent de limiter les effets de la contamination croisée. Au Royaume-Uni, un portage sain de *Salmonella* a été observé chez 23,0% des porcs au niveau du caecum, tandis que 5,3% des carcasses de ces mêmes animaux étaient contaminés (Davies *et al.*, 2004). Chez le bovin, seuls 0,2% des échantillons caecaux étaient contaminés. Une étude australienne (Fegan *et al.*, 2005) a mis en évidence une contamination bovine par *Salmonella* de 68% dans les toisons, 26% dans les matières fécales, et 3% sur les carcasses à l'abattoir. Une étude réalisée dans un système belge de production intégrée de porc, a montré une prévalence de *Salmonella* dans des échantillons de fèces inférieure au stade de l'engraissement (5,6%) par rapport à l'abattoir (47,3%), tandis que les écouvillons de carcasses étaient positifs dans 11,2% des cas (Korsak *et al.*, 2003).

Par contre, chez la volaille aucune étape d'abattage n'a de tels effets. Une étude belge réalisée entre 1998 et 2000 (Heyndrickx *et al.*, 2002) a montré que la transmission horizontale de *Salmonella* entre poulets de chair lors de l'engraissement, et entre carcasses à l'abattoir est le principal facteur déterminant la contamination du produit final. En ce qui concerne *Campylobacter*, plusieurs études belges ont montré une forte contamination des poulets présentés à l'abattoir (72%), contamination s'accroissant lors du transport et de l'abattage (79%) (Rasschaert *et al.*, 2006; Rasschaert *et al.*, 2007). En effet, lorsqu'un lot de poulets a un statut *Campylobacter* positif, aucun abattoir ne peut éviter la contamination des carcasses, et certains lots négatifs donnent lieu à des carcasses contaminées (Herman *et al.*, 2003). Cette contamination est observée dans d'autres pays, comme par exemple en Hongrie où une étude a observé que 93,3% des poulets vivants étaient contaminés par *Campylobacter* à l'abattoir, ce taux s'élevant à 100% à la fin de la ligne de production (Jozwiak *et al.*, 2006).

Au stade de la distribution, des taux élevés de contamination par *Campylobacter* sont également observés pour les volailles, mais également dans d'autres échantillons. Dans une étude britannique, la contamination des carcasses de poulets par *Salmonella* était plus élevée dans les échantillons congelés et prélevés chez les bouchers locaux, par rapport à ceux des détaillants et les carcasses fraîches (Meldrum *et al.*, 2005). Alors que la prévalence de *Campylobacter* dans le poulet est stable chez les détaillants entre 2001 et 2004, la prévalence de *Salmonella* diminue pendant cette période (Meldrum *et al.*, 2006). En Belgique, des analyses réalisées sur des carcasses et produits de volailles dans un dépôt de supermarché ont montré une contamination respective par *Salmonella*, *Campylobacter* et *Listeria monocytogenes* de 36,5%, 28,5% et 38,2% (Uyttendaele *et al.*, 1999). En Afrique du Sud, ce pourcentage s'élevait à, respectivement, 19,2%, 32,3% et 19,2% pour des carcasses de poulets provenant du commerce de détail (van Nierop *et al.*, 2005). Le tableau 1.2. donne un aperçu chiffré de la prévalences de *Salmonella* et *Campylobacter* des denrées alimentaires dans ces pays.

Tableau 1.2. : Taux de contamination des denrées alimentaires par *Campylobacter* et *Salmonella* au stade de la distribution

Pays	Type d'échantillon	Prévalence de <i>Salmonella</i>	Prévalence de <i>Campylobacter</i>
Chili (Fernández et Pison, 1996)	foies de poulets congelés	92,90%	
Royaume-Uni (Meldrum et al., 2005)	viande poulet	77,30%	
Royaume-Uni (Meldrum et al., 2005)	carcasses de poulet	73,10%	5,70%
Royaume-Uni (Kramer et al., 2000)	foies d'agneau	75%	
Royaume-Uni (Kramer et al., 2000)	foies de bœuf	49%	
Belgique (Uyttendaele et al., 1999)	carcasses et produits de volaille	36,50%	28,50%
Afrique du Sud (van Nierop et al., 2005)	carcasses de poulet	32,30%	19,20%

Index et indicateurs de contamination fécale

L'implication des denrées alimentaires d'origine animale dans nombre de toxi-infections d'origine alimentaire nécessite leur surveillance. Cependant, les procédures d'isolement et confirmation des microorganismes pathogènes qui en sont responsables comportent plusieurs étapes qui prennent un temps relativement long et sont coûteuses. Le dénombrement de certains groupes ou espèces de bactéries d'origine intestinale est une alternative étant donné que la source principale des microorganismes pathogènes est le tube digestif d'animaux domestiques.

Les index d'agents pathogènes d'origine intestinale - indiquant la présence probable d'agents pathogènes ayant une écologie semblable - seront appelés index de pathogènes fécaux. La présence d'autres microorganismes, tels que les staphylocoques et *Bacillus cereus*, dans les denrées alimentaires n'est pas considérée comme étant due à une contamination fécale. Bien qu'ayant un réservoir digestif, certaines autres espèces comme *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens* produisent des spores qui survivent longtemps dans l'environnement, alors que les germes pathogènes associés ont disparu. Ces germes ne conviennent donc pas comme index des principaux agents pathogènes bactériens d'origine digestive (Ray, 2001).

L'index idéal des bactéries pathogènes intestinales doit répondre à de plusieurs critères. Il doit (1) appartenir à une espèce ou quelques espèces ayant des caractéristiques les rendant identifiables, (2) être d'origine intestinale de telle sorte que sa présence rend celle des agents pathogènes d'origine intestinale possible, (3) être non pathogène de telle sorte que sa manipulation au laboratoire ne demande pas de précautions particulières, (4) être présent en nombre important dans les matières fécales pour être détectable lorsqu'un aliment est contaminé, même faiblement, (5) être dénombré par une méthode d'analyse simple, rapide et économique, pour libérer le produit rapidement et analyser plusieurs échantillons d'un même lot, (6) être confirmé par une méthode d'identification rapide faisant appel par exemple à des techniques de biologie moléculaire, (7) être dénombré même en présence d'un grand nombre de microorganismes associés, (8) avoir les mêmes caractéristiques de survie et croissance que les microorganismes pathogènes intestinaux de telle sorte qu'il soit détectable dans un aliment contenant encore les agents pathogènes, (9) avoir la même sensibilité aux stress physiques ou chimiques que les agents pathogènes, (10) être présent ou absent d'un aliment quand les agents pathogènes le sont également, (11) être en quantité proportionnelle par rapport au nombre d'agents pathogènes potentiellement présents : un grand nombre d'index correspond éventuellement à la présence d'un grand nombre d'agents pathogènes dans l'aliment, suite à une forte contamination fécale au départ, ou suite à une multiplication importante lors de sa conservation (Ray, 2001).

De nombreux index ont été décrits. Aucun ne répond à l'ensemble des critères. Entre la quantité d'index et d'agents pathogènes, il n'y a pas de relation de proportionnalité constante et universelle. Les agents pathogènes peuvent être absents même lorsqu'un dépassement du nombre d'index est observé ou présents sans dépassement du seuil de l'index (Briand, 2007). Pour les carcasses d'animaux de boucherie, les *E. coli* et germes aérobies totaux constituent les index ou indicateurs choisis par la majorité des auteurs, mais les coliformes totaux, les entérobactéries, les *Pseudomonas*, les staphylocoques coagulase positive sont également dénombrés en tant qu'index ou indicateur, comme le montre les tableaux 1.3. et 1.4. *Bifidobacterium* a également été proposé comme indicateur de contamination fécale étant donné sa présence en grande quantité dans le tube digestif des animaux et de l'homme (Beerens, 1998; Delcenserie *et al.*, 2002). Seuls certains sont des index au sens premier du terme ; les autres sont des indicateurs permettant de détecter d'autres défauts d'hygiène.

Tableau 1.3. : Flores bactériennes, méthodes d'analyse et d'échantillonnage utilisées pour les carcasses de bœufs, porcs et volailles à l'abattoir

Type d'échantillon	Bactéries	Méthode d'analyse	Méthode d'échantillonnage	Pays
carcasses de bœuf (Sofos <i>et al.</i> , 1999a)	<i>E. coli</i> , germes aérobies totaux et coliformes totaux, <i>Salmonella</i>	FSIS	Excision	USA
carcasses de bœuf (Ingham et Schmidt, 2000)	<i>E. coli</i> présumés, entérocoques	Pétrifilm (EC), DMG (EnC)	Eponges	USA
carcasses de bœuf (Arthur <i>et al.</i> , 2004)	entérobactéries, germes aérobies totaux, <i>E. coli</i> O157	Bactometer ou Pétrifilm (GAT, EnT), NPP (EC O157)	Eponges	USA
carcasses de bœuf (Bacon <i>et al.</i> , 2000)	<i>E. coli</i> , germes aérobies totaux et coliformes totaux	Pétrifilm (EC), DMG-PCA-35° (GTA)	Eponges	USA
carcasses de bœufs, porcs, dindes, oies (Eblen <i>et al.</i> , 2005)	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i>	FSIS (EC), PR/HACCP (SLM)	Eponges	USA
carcasses de poulets (Cason <i>et al.</i> , 2004)	<i>E. coli</i> , entérobactéries et coliformes totaux, <i>Campylobacter</i> (dénombrement)	DMG-VRBG (EnT), Pétrifilm (CT, EC), DMG-Campy-Cefex agar (CAM)	Rinçage et peau	USA
carcasses de poulets (Smith <i>et al.</i> , 2005)	<i>E. coli</i> , coliformes totaux, <i>Campylobacter</i> et <i>Salmonella</i> (nalidixic acide-résistant <i>Salmonella</i>)	Pétrifilm (CT et EC), DMG-BG Sulfa agar (SLM), DMG-Campy-Cefex agar (CAM)	Rinçage	USA
carcasses de porcs (Yeh <i>et al.</i> , 2005)	<i>E. coli</i> , germes aérobies totaux, coliformes totaux <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> et <i>Listeria monocytogenes</i>	FSIS (GAT, EC), AOAC (CAM)	Eponges	Taiwan
carcasses de porcs (Rho <i>et al.</i> , 2001)	germes aérobies totaux, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Salmonella</i> et <i>Yersinia enterocolitica</i>	FDA BAM	Ecouvillon stérile	Corée
carcasses de bœufs et chèvres (Sumner <i>et al.</i> , 2003)	<i>E. coli</i> et germes aérobies totaux	Pétrifilm (GAT, EC)	Eponges	Australie
carcasses de bœuf (McEvoy <i>et al.</i> , 2004)	<i>E. coli</i> , coliformes totaux, entérobactéries et germes aérobies totaux	DMG-PCA-25° (GAT), DMG-chromocult coliform agar (EC), DMG-VRBG-37° (EnT)	Cotons-tiges (dans MRD)	Irlande
carcasses de bovins et ovins (Byrne <i>et al.</i> , 2005)	entérobactéries et germes aérobies totaux	DMG-PCA-25° (GAT), DMG-VRBG-37° (EnT)	Excision et éponges (éponges dans MRD)	Irlande
carcasses de bœuf, porc et agneau (Pearce et Bolton, 2005)	entérobactéries et germes aérobies totaux	DMG-PCA-25° (GAT), DMG-VRBG-37° (EnT)	Excision et éponges (éponges dans MRD)	Irlande
carcasses de bœufs (Murray <i>et al.</i> , 2001)	entérobactéries, germes aérobies totaux, levures et moisissures	DMG-Nutrient-37° (GAT), DMG-VRBG-37° (EnT), DMG (LeM)	Six écouvillons différents (dont coton et commerciaux et 2 types d'éponges)	Irlande du Nord
carcasses de poulets, dindes (Mead <i>et al.</i> , 1993)	entérobactéries, germes aérobies totaux, coliformes totaux ou <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	DMG-PCA-30° (GAT), DMG-VRGA-37°, DMG- <i>Pseudomonas</i> Agar (Ps), DMG (SA)	Peau du cou	Royaume-Uni

carcasses de poulets (Berrang et al., 2002)	<i>E. coli</i> , coliformes totaux, germes aérobies totaux, coliformes totaux, <i>Campylobacter</i>	Pétrifilm (CT, EC), DMG-PCA-37° (GAT), DMG-Campy-Cefex agar (CAM)	Rinçage de la carcasse entière ou écouvillons de toute la carcasse (éponges et PBS)	Royaume-Uni
carcasses de poulets, dindes (Hutchison et al., 2006)	entérobactéries, germes aérobies totaux, <i>Pseudomonas</i> , <i>E. coli</i>	DMG-PCA-30° (GAT, ISO 4833), DMG-VRBGA-37° (EnT, ISO 5552), DMG-tryptone bile X-glucuronide agar (EC), DMG-CFC (Ps)	Peau du cou (MRD) et rinçage de la carcasse entière	Royaume-Uni
carcasses de bœufs et porcs (Hansson, 2001)	<i>E. coli</i> présumés, germes aérobies totaux, coliformes totaux, staphylocoques coagulase positive	DMG-PCA-30° (GAT), DMG-Baird-Parker-37° (SA), DMG-VRBA-37° (CT), DMG-VRBA-44° (EC)	Ecouvillons en coton stérile (avec PS)	Suède
carcasses de bœuf et de porc (Miraglia et al., 2005)	entérobactéries et germes aérobies totaux	DMG-PCA-37° (GAT), DMG-VRBG-37° (EnT)	Excision et écouvillonnage humide et sec	Italie
Carcasses de porcs (Bonardi et al., 2003)	<i>Salmonella</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>E. coli</i> 0157	DMG-SC-RV (SLM, ISO 6579), méthode Zeng et Xie (Yer), séparation immunomagnétique (EC O157)	écouvillons	Italie
Carcasses de porcs (Botteldoorn et al., 2003)	<i>Salmonella</i>	MRT-RV et MRMS-Diasalm (SLM)	écouvillons	Belgique

Tableau 1.4. : Flores bactériennes, méthodes d'analyse et d'échantillonnage utilisées pour les viandes de bœufs, porcs et volailles au stade de la transformation et de la distribution

Type d'échantillon	Bactéries	Méthode d'analyse	Méthode d'échantillonnage	Pays
viande de découpe et de la viande hachée de bœuf (Scanga et al., 2000)	<i>E. coli</i> , germes aérobies totaux et coliformes totaux, <i>Salmonella</i> et <i>Listeria monocytogenes</i>	Pétrifilm (GAT, EC, CT), DMG-Baird Parker (SA), FSIS (SLM), MRT-UVM (LMO)	500 g	USA
morceaux de découpe de poulets (Berrang et al., 2001b)	<i>E. coli</i> , germes aérobies totaux, coliformes totaux et <i>Campylobacter</i>	DMG-PCA-35° (GAT), Pétrifilm (EC, CT), DMG-Campy-Cefex agar (CAM)	Peau ou morceau de viande (si sans peau)	USA
produits de porc : muscles entiers, viande hachée, saucisse de porc, viande marinée (Duffy et al., 2001)	<i>E. coli</i> , germes aérobies totaux, <i>Salmonella</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Campylobacter</i> et <i>Yersinia enterocolitica</i>	FSIS	300 g	USA
viandes crues de poulet, dinde, porc et bœuf (carcasses de poulet, filet de dinde, steaks de bœuf, découpe de porc) (Zhao et al., 2001)	<i>E. coli</i> , <i>Campylobacter</i> et <i>Salmonella</i>	FDA-BAM	Unité d'emballage : rinçage de l'échantillon	USA
Viande de bœuf (Phillips et al., 2001)	<i>E. coli</i> et germes aérobies totaux <i>Salmonella</i> , staphylocoques coagulase positive et <i>E. coli</i> O157:H7	MRT (EC 0157), DMG-Baird Parker (SA), MRT-SC-RV (SLM)	Prélèvement de parties congelées : 100 g	Australie
viandes prêtes à la consommation et de pâtés (Elson et al., 2004)	<i>E. coli</i> , germes aérobies totaux et entérobactéries, <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> et <i>Listeria monocytogenes</i>	HPA	100 g	Royaume-Uni
Carcasses et produits de poulets (découpe, préparations) (Uyttendaele et al., 1998)	<i>Salmonella</i>	MRT-RV (SLM)	Peau ou morceau de viande (si sans peau)	Belgique
Carcasses et produits de poulets (découpe, préparations) (Uyttendaele et al., 1999)	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	MRT-RV (SLM), MRT-Preston- <i>Campylobacter</i> selective medium (CAM), MRT-Fraser-demi-Fraser-complet (LMO)	Peau ou morceau de viande (si sans peau) 75 g	Belgique

Légende des tableaux 1.3. et 1.4.

AOAC : méthode AOAC pour la recherche de *Campylobacter* (milieux HEB + MCCC agar)
CAM : recherche ou dénombrement de *Campylobacter*
CT : dénombrement des coliformes totaux
DMG : dénombrement sur milieu gélosé
DMG-x-y° : dénombrement sur milieu gélosé en utilisant le milieu x incubé à la température y
EC O157 : recherche d'*E. coli* O157
EC : dénombrement d'*E. coli*
EnC : dénombrement d'entérocoques
EnT : dénombrement des entérobactéries
FDA BAM : méthode du Bacteriological Analytical Manual de la FDA (Food and Drug Administration) des USA
FSIS : méthode de la officielle du Food and Safety and Inspection Service (FSIS) de l'U.S. Department of Agriculture (USDA). (méthode utilisant les Pétrifilm pour le dénombrement d'*E. coli* - tetrathionate, RV pour la recherche de *Salmonella*)
GAT : dénombrement de germes aérobies totaux
HPA : méthode de la Health Protection Agency (pour CAM : Bolton, CCDA)

LeM : levures et moisissures
LMO : *Listeria monocytogenes*
MRD : maximum recovery diluant
MRSM : méthode de recherche utilisant un milieu semi-solide
MRSM-x : méthode de recherche utilisant le milieu semi-solide x
MRT : méthode de recherche traditionnelle
MRT-x : méthode de recherche traditionnelle en utilisant le milieu x
NPP : dénombrement par la technique du nombre le plus probable
Pétrifilm : méthode de dénombrement sur milieu commercial Pétrifilm (3M Health Care, St Paul, USA)
PR/HACCP : méthode officielle des USA (Federal Register)
Ps : dénombrement de *Pseudomonas* spp
RV : milieu Rappaport-Vassiliadis
SA : dénombrement de *Staphylococcus aureus*
SC : milieu sélénite-cystine
SLM : recherche de *Salmonella*
Yer : recherche de *Yersinia enterocolitica*

Aux USA, les *E. coli*, les germes aérobies totaux, les coliformes totaux, et parfois les entérobactéries sont dénombrés sur les carcasses de bœufs et de porcs à l'abattoir (Sofos *et al.*, 1999a; Bacon *et al.*, 2000; Ingham et Schmidt, 2000; Arthur *et al.*, 2004; Eblen *et al.*, 2005), tout comme en Australie et à Taiwan (Sumner *et al.*, 2003; Yeh *et al.*, 2005). Les *E. coli*, les coliformes totaux et les entérobactéries sont dénombrées sur les carcasses de volaille (Cason *et al.*, 2004; Eblen *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 2005).

En Europe, les entérobactéries et germes aérobies totaux sont généralement utilisés comme index ou indicateur pour les carcasses de bœufs, porcs et volailles à l'abattoir (Mead *et al.*, 1993; Murray *et al.*, 2001; McEvoy *et al.*, 2004; Byrne *et al.*, 2005; Miraglia *et al.*, 2005; Pearce et Bolton, 2005; Hutchison *et al.*, 2006). Les *E. coli* et les coliformes totaux sont également dénombrés dans certaines études, de même que les *Pseudomonas* pour les carcasses de volaille (Mead *et al.*, 1993; Hansson, 2001; Berrang *et al.*, 2002; McEvoy *et al.*, 2004; Hutchison *et al.*, 2006).

Aux stades de la transformation et de la distribution, les échantillons de viande font également l'objet de nombreuses études visant à évaluer leur qualité microbiologique, par le biais du dénombrement d'index ou indicateurs qui sont souvent *E. coli* et les germes aérobies totaux (Scanga *et al.*, 2000; Berrang *et al.*, 2001b; Duffy *et al.*, 2001; Phillips *et al.*, 2001; Zhao *et al.*, 2001; Elson *et al.*, 2004), avec éventuellement les coliformes totaux ou les entérobactéries (Scanga *et al.*, 2000; Berrang *et al.*, 2001b; Elson *et al.*, 2004).

Plans de surveillance des microorganismes dans les denrées alimentaires

Plans de surveillance des denrées alimentaires d'origine animale

De nombreux plans de surveillance ont été mis en place dans les abattoirs, ateliers de transformation et détaillants de carcasses et viande de bovins, porcins et volailles. Les tableaux 1.5. et 1.6. résument les objectifs et techniques d'échantillonnage de 21 études.

Leur objectif principal est souvent de disposer de données microbiologiques nationales dans une filière ou un type de produit pour les flores indicatrices, index, d'altération ou des agents pathogènes. Les carcasses, viandes et éventuellement l'équipement d'abattage sont échantillonnés. En outre, un objectif complémentaire est souvent décrit. Il s'agit de déterminer l'évolution de la situation microbiologique suite à une intervention (par exemple pour vérifier l'efficacité de la mise en place de plans HACCP qui est une méthodologie d'identification et d'évaluation des dangers associés aux différentes étapes d'une production dans le but de définir les moyens nécessaires à leur maîtrise), de déterminer l'effet du type d'établissement (en fonction de sa taille, la technique d'éviscération de l'abattoir, la chaîne de supermarché), de la saison, de l'origine de la viande, de comparer ou développer des méthodes d'échantillonnage, ou de comparer la situation nationale par rapport à la réglementation européenne. D'autres études visaient à établir des critères de performances, à vérifier si l'utilisation de bactéries indicatrices ou index était appropriée, ou à déterminer la contribution des différentes sources de contamination des carcasses.

Les modalités d'échantillonnage varient de façon importante en fonction des études. Les articles scientifiques repris dans le tableau 1.5. montrent que 36 à 21.492 échantillons ont été prélevés dans 1 à 735 abattoirs (correspondant à l'ensemble des abattoirs des USA sous inspection fédérale) sur une période de une semaine à 18 mois.

Tableau 1.5. : Objectifs et échantillonnage utilisées pour les carcasses de bœufs, porcs et volailles à l'abattoir

Type d'échantillon	Objectif	Echantillonnage	Pays
Viande de bœuf (Phillips et al., 2001)	Déterminer la qualité microbiologique de la viande et comparer avec une étude précédente	- n= 1275 - lieux : 28 abattoirs (grands et moyens : 200-300 animaux/jour) dans tous les états d'Australie et représentant la production bovine statistiquement + 31 très petits abattoirs (>150 animaux/semaine) - période : juin-novembre 1998 - prise d'échantillons : les mardi, mercredi et jeudi, 28-39 échantillons prélevés à chaque visite (1-20 pour les très petits abattoirs) et 1 visite par abattoir	Australie
carcasses de bœuf (Sofos et al., 1999a)	Statut microbiologique des carcasses de bœuf aux USA en 1995 et 1996 et déterminer l'effet de la saison (sèche – humide)	- n= 3780 - lieux : 7 établissements situés dans 6 états - période : novembre 1995 – janvier 1996 et mai 1996 – juin 1996 - prise d'échantillons : 270 échantillons prélevés dans chaque établissement à chaque visite et 2 visites par établissement	USA
carcasses de bœuf (Ingham et Schmidt, 2000)	Déterminer l'incidence des microorganismes sur les carcasses de bovins et l'équipement d'abattage	- n= 79 carcasses - lieux : 1 petit abattoir - période : février 1999 – juin 1999 - prise d'échantillons : 6 échantillons prélevés par abattoir par semaine	USA
carcasses de bœufs, porcs, dindes, oies (Eblen et al., 2005)	Disposer de données microbiologiques nationales	- n= 1881 échantillons de bovins et 2127 de porcs - lieux : tous les établissements sous inspection fédérale pour l'abattage de bovins et de porcs (environ 735 et 680) - période : juin 1997– mai 1998 (52 semaines) - prise d'échantillons : les établissements étaient sélectionnés au hasard sur base de leur production annuelle	USA
carcasses de porcs (Yeh et al., 2005)	Construire des bases de données pour établir la situation pour les carcasses de porc et évaluer l'effet « abattoir »	- n= 1650 (pour indicateurs) et 1038 (pour pathogènes) - lieux : 39 établissements situés dans 16 comtés de Taiwan - période : novembre 1995 – janvier 1996 et mai 1996 – juin 1996 - prise d'échantillons : 10 échantillons prélevés dans chaque établissement à chaque visite et 2 à 3 visites par établissement par an	Taiwan
carcasses de bœufs et chèvres (Sumner et al., 2003)	Surveillance microbiologique des carcasses dans les abattoirs de l'état et les très petits abattoirs, et modifications de l'hygiène de la viande après 5 ans d'HACCP	- n= 159 de bovins - lieux : 4 des 5 abattoirs moyens ou grands et 13 des 41 très petits abattoirs situés dans une région géographiquement définie - période : 1 semaine en mars 2002 - prise d'échantillons : 1 visite par établissement	Australie
carcasses de bœuf (McEvoy et al., 2004)	Examiner la contamination microbienne de carcasses de bœufs et comparer par rapport aux critères de la directive 2001/471/CE	- n= 36 - lieux : 1 abattoir - période : 12 mois - prise d'échantillons : au niveau de 8 stades d'abattage	Irlande
carcasses de bœufs (Murray et al., 2001)	Développer une méthode d'échantillonnage non destructive et déterminer la qualité microbiologique de carcasses de bovins	- n=420 - lieux : les 7 principaux abattoirs de bovins - période : 9 mois - prise d'échantillons : 20 échantillons de carcasses sélectionnées au hasard prélevés à chaque visite et 3 visites par abattoir	Irlande du Nord
carcasses de poulets, dindes (Mead et al., 1993)	Surveillance pour déterminer l'extension de la contamination microbiologique des carcasses (germes aérobies totaux, germes fécaux et d'altération)	- n= 60 (poulets) 15 (dindes) - lieux : 4 abattoirs de poulets et 1 de dindes - période : 5 mois - prise d'échantillons : 5 échantillons prélevés à chaque visite et 3 visites par abattoir	Grande-Bretagne

carcasses de bovins (Vanderlinde et al., 2005)	Etablir des critères de performances dans les abattoirs sur base du monitoring d' <i>E. coli</i> et <i>Salmonella</i> (ESAM) imposé par l'Australian Quarantine and Inspection Services (AQIS)	- n=21.492 bovins - lieux : plus de 36 abattoirs - période : janvier 2000 – juin 2001 (18 mois) - prise d'échantillons : -	Australie
carcasses de poulets, dindes (Hutchison et al., 2006)	Déterminer s'il est approprié d'utiliser des populations de bactéries indicatrices pour la vérification des processus et comparaison de 2 méthodes d'échantillonnage	- n= environ 780 (60 pour comparer les méthodes) - lieux : 1-18 abattoirs en fonction de l'objectif - période : février 2003 – février 2004 - prise d'échantillons : 15 échantillons prélevés par visite (une fois par semaine) ; pour comparaison des méthodes d'échantillonnage : 20 échantillons prélevés par visite (2 jours différents par semaine)	Grande-Bretagne
carcasses de bœufs et porcs (Hansson, 2001)	Déterminer l'incidence de différentes bactéries sur les carcasses et comparer les abattoirs de faible ou grande capacité et la technique d'éviscération	- n= 200 bovins et 200 porcs - lieux : 8 abattoirs de bovins et 8 abattoirs de porcs (dont 4 de faible capacité choisis au hasard et 4 de grande capacité sélectionnés parmi les plus grands producteurs) - période : 1998 - prise d'échantillons : 25 carcasses prélevées par abattoir lors d'au moins 3 visites	Suède
Carcasses de porcs (Bonardi et al., 2003)	Déterminer le portage de <i>Salmonella</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> et <i>E. coli</i> O157 à l'abattoir et le taux de contamination des carcasses	- n= 150 - lieux : 2 grands abattoirs dans le nord de l'Italie - période : décembre 1999 – décembre 2000 - prise d'échantillons : lors de 23 visites	Italie
Carcasses de porcs (Botteldoorn et al., 2003)	Contribution des différentes sources de contamination des carcasses de porcs par <i>Salmonella</i>	- n= 53 - lieux : 5 abattoirs (300 – 600 porcs/heure) dans l'ouest de la Belgique - période : - - prise d'échantillons : 2 échantillons prélevés à chaque visite et 3 visites par abattoir	Belgique

n : nombre d'échantillons prélevés

Au stade de la transformation et de la distribution, le tableau 1.6. montre que 237 à 4078 échantillons de viandes ont été prélevés dans 8 à 1658 établissements, ou au niveau du centre de distribution d'une chaîne de distribution. Les prélèvements sont parfois réalisés par les services d'inspection compétents.

Tableau 1.6. : Objectifs et échantillonnage utilisés pour les viandes de bœufs, porcs et volailles au stade de la transformation et de la distribution

Type d'échantillon	Objectif	Echantillonnage	Pays
viande de découpe et de la viande hachée de bœuf (Scanga et al., 2000)	Contamination microbienne : comparaison des différents origines de viande hachée (contenu en graisse, type et origine des bovins)	8 établissements d'emballage / hachage 19 emballages individuels, 237 échantillons de découpe et 284 échantillons de viande hachée	USA
produits de porc : muscles entiers, viande hachée, saucisse de porc, viande marinée (Duffy et al., 2001)	Evaluer la contamination microbiologique de produits de porcs au niveau de la transformation et du commerce de détail	- n= 384 échantillons (commerces) - lieux : 24 magasins situés dans 6 villes - période : novembre 1995 – janvier 1996 et mai 1996 – juin 1996 - prise d'échantillons : 4 échantillons de chaque type de produits a été prélevé dans chaque magasin sur une période de 2 jours	USA
viandes crues de poulet, dinde, porc et bœuf (carcasses de poulet, filet de dinde, steaks de bœuf, découpe de porc) (Zhao et al., 2001)	Déterminer la prévalence de <i>Campylobacter</i> , <i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i> et associer la prévalence avec le type de production, la saison, la chaîne de supermarché	- n=882 - lieux : magasins de détail et 4 chaînes de supermarchés - période : juin 1999 – juillet 2000 (14 mois) - prise d'échantillons : le lundi, 8 échantillons prélevés dans 4 magasins choisis au hasard	USA
Viande de bœuf (Phillips et al., 2001)	Déterminer la qualité microbiologique de la viande et comparer avec une étude précédente	- n= 990 - lieux : 30 ateliers de découpe dans tous les états d'Australie - période : juin 1998 - novembre 1998 - prise d'échantillons : les mardi, mercredi et jeudi, 28-39 échantillons prélevés à chaque visite et 1 visite par établissement	Australie
viandes prêtes à la consommation et pâtés (Elson et al., 2004)	Etablir la qualité microbiologique aux stades de la restauration et du commerce de détail	- n= 4078 - lieux : 630 restaurants et 1658 magasins - période : 1 ^{er} mai 2002 – 30 juin 2002 - prise d'échantillons : -	Grande-Bretagne
Carcasses et produits de poulets et de dinde (découpe, préparations) (Uyttendaele et al., 1998)	Disposer de plus d'informations sur la prévalence de <i>Salmonella</i> dans les produits crus de volaille vendus en Belgique	- n= 1895 - lieux : le centre de distribution d'une grande chaîne de supermarchés - période : 1993 - 1996 - prise d'échantillons : 1 fois par mois	Belgique
Carcasses et produits de poulets (découpe, préparations) (Uyttendaele et al., 1999)	Déterminer l'incidence par <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> et <i>Listeria monocytogenes</i> distribués sur le marché belge	- n= 772 - lieux : dans le dépôt d'une grande chaîne de supermarchés - période : janvier 1997 – mai 1998 - prise d'échantillons : une fois par mois	Belgique

n : nombre d'échantillons prélevés

Méthodes de prélèvement

Prélèvements de l'environnement et des animaux

En exploitation, des échantillons d'aliments pour animaux, de matières fécales, de poussières, de surchaussures sont prélevés ou un monitoring sérologique est réalisé pour déterminer le statut d'un troupeau vis-à-vis de *Salmonella* ou *Campylobacter* (Korsak *et al.*, 2003; Hofshagen et Kruse, 2005; Van Overbeke *et al.*, 2006).

A chacune des étapes des filières de production de viande, la contamination bactérienne de l'environnement peut être contrôlée pour vérifier les procédures de nettoyage et désinfection, mais également pour apprécier la contamination du matériel par les animaux ou la viande lors de leur manipulation. Des écouvillons, des boîtes de contacts, des tests d'ATPmétrie ou de sédimentation des bactéries présentes dans l'air ambiant sont réalisés pour la recherche d'agents pathogènes tels que *Salmonella* et *Campylobacter* ou le dénombrement d'indicateurs (Rho *et al.*, 2001; Jozwiak *et al.*, 2006).

A l'abattoir, le prélèvement de matière fécale, du contenu du caecum, de certains organes ou de ganglions sur les animaux permet également de déterminer le statut d'un animal (Korsak *et al.*, 2003; Barrios *et al.*, 2006; Lindblad *et al.*, 2006; Rasschaert *et al.*, 2006).

Cette introduction se concentrera plus particulièrement sur les méthodes d'échantillonnage des carcasses et des viandes à l'abattoir, aux stades de la transformation et de la distribution.

Prélèvements à l'abattoir

Il existe plusieurs méthodes d'échantillonnage des carcasses à l'abattoir. Elles utilisent des techniques différentes en termes de prélèvement, de surfaces et de matériel. Leur utilisation dépend en premier lieu de l'espèce animale : les bovins, porcins, ovins (animaux de boucherie), d'une part, et la volaille, d'autre part.

Dans des études réalisées aux USA, en Australie, en Corée et à Taiwan, les méthodes de prélèvement sur carcasses d'animaux de boucherie sont souvent la méthode officielle du Food Safety and Inspection Service (FSIS) de l'U.S. Department of Agriculture (USDA). Les carcasses sont écouvillonnées en utilisant une éponge stérile hydratée d'eau peptonée ou d'eau peptonée tamponnée. Trois zones de 100 cm² sont échantillonnées. Chez le bovin, elles se situent sur le flanc, le thorax (le gros bout de poitrine) et le rumsteak (au niveau du bassin), et sur la poitrine, le jambon et la gorge chez le porc (Bacon *et al.*, 2000; Ingham et Schmidt, 2000; Rho *et al.*, 2001; Eblen *et al.*, 2005; Yeh *et al.*, 2005). D'autres surfaces peuvent être échantillonnées : de 200 cm² (Sumner *et al.*, 2003) à 4000 cm² (Arthur *et al.*, 2004) au total. Le prélèvement de tissu de surface musculo-adipeux, appelé excision, est également une méthode utilisée aux USA sur les mêmes surfaces que celles décrites ci-dessus (Sofos *et al.*, 1999a).

En Europe, le prélèvement est également réalisé par écouvillonnage ou par excision. Les écouvillons sont le plus souvent utilisés selon la technique du « wet and dry » : la surface est frottée, d'abord après humidification de l'écouvillon à l'aide d'une solution de peptone-sel (maximum recovery diluent ou MRD), et ensuite en utilisant une face sèche de l'écouvillon ou un autre écouvillon. Différents types d'écouvillons sont utilisés : le coton-tige (McEvoy *et al.*, 2004), l'éponge (Byrne *et al.*, 2005; Pearce et Bolton, 2005), le torchon et l'éponge ménagères (Murray *et al.*, 2001), le coton stérile (Korsak *et al.*, 1998; Hansson, 2001; Murray *et al.*, 2001; Botteldoorn *et al.*, 2003). Quatre zones sont le plus souvent échantillonnées : le collier, le thorax (ou gros bout de poitrine), le flanc et le rumsteak (au niveau du bassin) chez le bœuf, et la gorge, la poitrine, le dos et le jambon chez le porc (Byrne *et al.*, 2005; Miraglia *et al.*, 2005). En Belgique, 4 zones par demi-carcasse correspondant à 600 cm² chez le porc et 1600 cm² chez le bœuf sont échantillonnées : le membre antérieur, le sternum, le bassin et le jambon chez le porc et le membre antérieur, le thorax, le flanc et le rumsteak chez le bœuf (Korsak *et al.*, 1998; Botteldoorn *et al.*, 2003). D'autres auteurs écouvillonnent seulement 2 zones : le rumsteak et le sternum des bœufs et porcs, pour une surface totale de 200 cm² (Hansson, 2001), la gorge et le sternum de porcs pour une surface totale de 800 cm² (Bonardi *et al.*, 2003).

L'excision est réalisée en utilisant un emporte-pièce et un scalpel. La surface totale est alors de 20 cm² (Byrne *et al.*, 2005) à 25 cm² (Miraglia *et al.*, 2005).

Conformément à la réglementation en vigueur, l'écouvillonnage est généralement réalisé avant le processus de refroidissement des carcasses en Europe, et après celui-ci aux USA (De Zutter *et al.*, 1982; Dorsa *et al.*, 1996; United States Department of Agriculture, 1996; Vanderlinde *et al.*, 1998; Phillips *et al.*, 2001; Byrne *et al.*, 2005; Commission européenne, 2005b; Hutchison *et al.*, 2005; Miraglia *et al.*, 2005). Le taux de récupération des microorganismes des carcasses de porcs et bœufs prélevées après refroidissement par rapport aux carcasses échantillonnées juste après le processus d'abattage varie entre 4% et 100% par la méthode d'excision et entre 43% et 93% par la méthode d'écouvillonnage (Sofos *et al.*, 1999a; Ware *et al.*, 1999; Yu *et al.*, 2001). L'attachement irréversible des bactéries et biofilms formés au niveau des anfractuosités superficielles de la peau peut provoquer une diminution du nombre de bactéries retrouvées 30 minutes à quelques heures après abattage (Yu *et al.*, 2001; Capita *et al.*, 2004).

Plusieurs auteurs européens ont comparé les méthodes d'écouvillonnage et d'excision pour le dénombrement des germes aérobies totaux, *E. coli* ou entérobactéries. Certains auteurs obtiennent une meilleure récupération bactérienne par excision par rapport à des écouvillons en coton, compresse médicale, ou éponge en acétate de cellulose (Gill et Jones, 2000; Miraglia *et al.*, 2005). D'autres (Byrne *et al.*, 2005; Pearce et Bolton, 2005) ont montré que l'écouvillonnage au moyen d'une éponge en polyuréthane est aussi efficace que l'excision et concluent qu'il s'agit d'une bonne alternative à l'excision qui a l'avantage d'être non-destructive pour la carcasse, d'être plus aisée et rapide à réaliser. Une étude irlandaise a testé des compresses en coton, éponges et torchons de ménage, éponges pour écouvillonnage et a montré une bonne récupération des souches bactériennes, une facilité d'utilisation, et un coût intéressant des éponges ménagères (Murray *et al.*, 2001).

Une norme internationale, l'ISO 17.604 (Organisation internationale de normalisation, 2003d), traite du prélèvement d'échantillons sur des carcasses en vue de leur analyse microbiologique. Elle précise des méthodes de prélèvement en vue de la recherche et du dénombrement des microorganismes à la surface de carcasses d'animaux de boucherie venant d'être abattus. L'échantillonnage microbiologique peut être effectué dans le cadre du contrôle des processus de fabrication (et pour en vérifier la maîtrise) dans les abattoirs d'animaux de boucherie, du système de contrôle de l'évaluation des risques appliqué à la sécurité des produits, et des programmes de surveillance pour la prévalence des microorganismes pathogènes. Cette norme prévoit l'emploi de techniques destructives et non destructives, en

fonction de l'objectif du prélèvement d'échantillons. La méthode destructive permet la récupération de plus de bactéries que la méthode d'écouvillonnage, et possède une répétabilité et une reproductibilité meilleures. Cependant, cette méthode ne permet le prélèvement que d'une petite proportion de la carcasse et peut entraîner des conséquences économiques préjudiciables pour la carcasses. Le lieu au niveau de l'abattoir et l'endroit de la carcasse où auront lieu les prélèvements doivent être choisis en fonction des pratiques de l'abattoir. Ils doivent être choisis en fonction des étapes du processus identifiées comme problématiques et doivent correspondre aux emplacements présentant la plus grande prévalence de contamination (Organisation internationale de normalisation, 2003d).

Aux USA et en Europe, les carcasses de volailles à l'abattoir font le plus souvent l'objet d'un prélèvement de peau du cou (Mead *et al.*, 1993; Hutchison *et al.*, 2006), ou de l'échantillonnage par rinçage de la totalité de la carcasse (Berrang *et al.*, 2002; Cason *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2005; Hutchison *et al.*, 2006). Des études montrent, d'une part, que l'excision de peau de cou est à préférer parce qu'elle est plus pratique, plus rapide, moins chère, plus reproductible, et d'autre part, que le cou est le meilleur endroit pour prélever la peau qui y contient un nombre représentatif de *Salmonella* et dont le prélèvement ne déprécie pas la valeur de la carcasse (Kotula et Davis, 1999; Hutchison *et al.*, 2006). Les dindes et les oies sont écouvillonnées au moyen d'une éponge (Eblen *et al.*, 2005) ou par excision de peau du cou (Mead *et al.*, 1993).

Echantillonnage dans les secteurs de la transformation et de la distribution

Dans les salles de découpe et de transformation de viande de bœuf et de porc, les échantillons sont prélevés directement sur les lots de viande disponibles (Scanga *et al.*, 2000; Duffy *et al.*, 2001; Phillips *et al.*, 2001; Elson *et al.*, 2004). Quand il s'agit de carcasses ou de morceaux de découpe de volaille, l'analyse est réalisée sur la peau, une partie de l'échantillons sans peau ou le liquide de rinçage (Uyttendaele *et al.*, 1998; Uyttendaele *et al.*, 1999; Berrang *et al.*, 2001b; Zhao *et al.*, 2001). Une étude allemande a montré que la méthode de rinçage était équivalente à l'homogénéisation de la peau de cuisses de poulets pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* (Scherer *et al.*, 2006). L'échantillon prélevé dans les entreprises est, soit un emballage commercial, soit d'un poids entre 75 et 500 g (Uyttendaele *et al.*, 1999; Scanga *et al.*, 2000; Berrang *et al.*, 2001b; Duffy *et al.*, 2001; Phillips *et al.*, 2001; Zhao *et al.*, 2001; Elson *et al.*, 2004).

Méthodes d'analyse

Les laboratoires de microbiologie des aliments ont l'avantage d'avoir à leur disposition de nombreuses méthodes d'essais standardisées, c'est-à-dire normalisées et validées. Des instances internationales telles que l'ISO (Organisation internationale de normalisation), des instances nationales comme la FDA (Food and drug administration des Etats Unis d'Amérique et son Bacteriological Analytical Manual), l'AFNOR (Association française de normalisation), le DIN (Deutsches institut für normung), le NEN (Nederlands Europese norm, Nederlands normalisatie instituut), le NMKL (Nordisk metodikkomitté för livsmedel) publient des méthodes dites normalisées, c'est-à-dire des méthodes reconnues au niveau national ou international et dont la justesse, la sensibilité et la fidélité sont de plus en plus souvent établies. Certaines de ces organisations valident également des méthodes commerciales conformément à la norme ISO 16.140 (Organisation internationale de normalisation, 2003c). Ces méthodes dites alternatives sont souvent plus rapides que les méthodes traditionnelles et peuvent consister en un milieu de culture différent (par exemple par son support, par la mise en évidence des bactéries-cible par une coloration spécifique), une automatisation ou une technique immunologique, de biologie moléculaire, de bioluminescence, d'impédancemétrie, etc. (de Boer et Beumer, 1999; Ghafir et Daube, 1999).

L'utilisation de méthodes normalisées ou de méthodes alternatives validées par un organisme de normalisation permet aux laboratoires de ne plus devoir mettre en place des procédures de validation visant à démontrer les performances de leurs méthodes, mais uniquement leur maîtrise au laboratoire. Cependant, l'utilisation d'une méthode non normalisée qui a des performances équivalentes ou supérieures, d'une technologie plus moderne qui a un degré de validation adéquat pour l'utilisation recherchée peut être intéressante lorsqu'aucune méthode normalisée n'existe ou pour réduire les coûts d'analyse (Ghafir et Daube, 1999).

En Belgique, l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire (AFSCA) publie une liste de méthodes reconnues que les laboratoires doivent appliquer lorsqu'ils analysent des denrées alimentaires dans le cadre du programme de contrôle de l'AFSCA et dans le cadre de l'autocontrôle. Il s'agit de méthodes ISO et de méthodes commerciales validées selon les exigences de la norme ISO 16.140 (Organisation internationale de normalisation, 2003c). Le tableaux 1.7. et 1.8. reprennent les méthodes reconnues pour le dénombrement des principales flores indicatrices et pathogènes.

Tableau 1.7. : Méthodes reconnues par l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire pour les principales flores indicatrices dans les denrées alimentaires d'origine animale (en date du 7/1/2008)

Flore	Code de la méthode	Titre de la méthode
Dénombrement de germes aérobies totaux	ISO 4833	Méthode horizontale pour le dénombrement des microorganismes – technique de comptage des colonies à 30°C
	AFNOR-3M-01/1-09/89 (1)	Pétrifilm flore totale
	AFNOR BIO-12/15-09/05 (1)	TEMPO TVC flore mésophile aérobie revivifiable
	MV0703-001LR (1)	Compact Dry TC
Dénombrement des entérobactéries	ISO 21.528-1	Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des <i>Enterobacteriaceae</i> - Partie 1: Recherche et dénombrement à l'aide de la technique NPP avec préenrichissement
	ISO 21.528-2	Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des <i>Enterobacteriaceae</i> - Partie 1: Méthode par comptage des colonies
	AFNOR 3M-01/6-09/97 (1)	Pétrifilm <i>Enterobacteriaceae</i>
	AFNOR BIO-12/21-12/06 (1)	Tempo EB
Dénombrement des <i>E. coli</i>	ISO 16.649-1	Méthode horizontale pour le dénombrement des <i>E. coli</i> bêta-glucuronidase positive - Partie 1: Technique de comptage des colonies à 44°C au moyen de membranes et de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl bêta-D glucuronate
	ISO 16.649-2	Méthode horizontale pour le dénombrement des <i>E. coli</i> bêta-glucuronidase positive - Partie 2: Technique de comptage des colonies à 44°C au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl bêta-D glucuronate
	ISO/TS 16.649-3	Méthode horizontale pour le dénombrement des <i>E. coli</i> bêta-glucuronidase positive - Partie 3: Technique du nombre le plus probable utilisant le bromo-4-chloro-3-indolyl bêta-D glucuronate
	AFNOR 3M-01/8-06/01 (1)	Petrifilm select <i>E. coli</i>
	AFNOR BIO-12/5-01/99 (1)	Gélose COLI – ID (44°C)
	AFNOR BIO-12/19-12/06 (1)	Gélose COLI – ID (37°C)
	AFNOR BIO-12/13-02/05 (1)	TEMPO EC
	AFNOR BRD-07/1-07/93 (1)	Rapid <i>E. coli</i> 2 (44°C)
	AFNOR BRD-07/7-12/04 (1)	Rapid <i>E. coli</i> 2 (37°C)

(1) Méthode alternative validée selon l'ISO 16.140.

Les bactéries indicatrices ou index sont le plus souvent dénombrées en utilisant un milieu gélifié permettant la croissance des bactéries-cible, sélectionnées par rapport à leurs caractéristiques biochimiques. Dans certains cas, des tests de confirmation sont ensuite réalisés.

Tableau 1.8. : Méthodes reconnues par l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire pour les principales flores pathogènes dans les denrées alimentaires d'origine animale (en date du 7/1/2008)

Flore	Code de la méthode	Titre de la méthode
Recherche de <i>Salmonella</i>	ISO 6579	Méthode horizontale pour la recherche des <i>Salmonella</i>
	AFNOR ABI-29/01-09/07 (1)	TAQMAN <i>Salmonella</i>
	AFNOR AES-10/4-05/04 (1)	Simple Method for <i>Salmonella</i> (SMS)
	AFNOR ART-27/01-12/05 (1)	Rapidyme <i>Salmonella</i>
	AFNOR BIO-12/1-04/94 (1)	VIDAS <i>Salmonella</i> (double voie)
	AFNOR BIO-12/10-09/02 (1)	VIDAS <i>Salmonella</i> (simple voie)
	AFNOR BIO-12/16-09/05 (1)	VIDAS Easy <i>Salmonella</i>
	AFNOR BIO-12/22-05/07 (1)	VIDAS ICS2 SLM
	AFNOR BIO-12/23-05/07 (1)	VIDAS ICS2-Plate
	AFNOR BKR-23/04-12/07 (1)	SESAME <i>Salmonella</i> Test
	AFNOR BLN-26/01-03/04	Bioline <i>Salmonella</i> Elisa Test SELECTA (enrichissement 24h)
	AFNOR BLN-26/02-03/04	Bioline <i>Salmonella</i> Elisa Test Optima (enrichissement 40h)
	AFNOR BRD-07/6-07/04 (1)	IQ-Check <i>Salmonella</i>
	AFNOR BRD-07/11-12/05 (1)	Rapid' <i>Salmonella</i>
	AFNOR EUR-15/2-11/00	Lumiprobe 24 <i>Salmonella</i>
	AFNOR QUA-18/3-11/02 (1)	BAX <i>Salmonella</i> (automatisé)
	AFNOR TEC-24/2-04/03 (1)	Tecra Ultima <i>Salmonella</i>
	AFNOR TEC-24/3-12/03 (1)	Tecra Unique <i>Salmonella</i>
	AFNOR TRA-02/8-03/01 (1)	Transia Plate <i>Salmonella</i> Gold
	AFNOR TRA-02/09-07/07 (1)	TAG 24 <i>Salmonella</i> 02/07/2011
	AFNOR UNI-03/1-05/91 (1)	<i>Salmonella</i> Rapid Test 07/09/2011
	AFNOR UNI-03/06-12/07 (1)	<i>Salmonella</i> Inhibigen 04/12/2011
Recherche de <i>Campylobacter</i> thermophiles	ISO 10272-1	Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de <i>Campylobacter</i> spp. -- Partie 1: Méthode de recherche
Recherche d' <i>E. coli</i> O157	ISO 16654	Méthode horizontale pour la recherche des <i>Escherichia coli</i> O157
	AFNOR BIO-12/8-07/00	VIDAS ECO ICE 05/07/2008 en cours
	AFNOR BRD-07/14 (1)	Rapid'E coli O157:H7
Recherche de <i>Yersinia enterocolitica</i> (y compris les sérotypes pathogènes)	ISO 10273	Méthode horizontale pour la recherche de <i>Yersinia enterocolitica</i> présumées pathogènes
Recherche de <i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-1	Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de <i>Listeria monocytogenes</i> -- Partie 1: Méthode de recherche
	AFNOR AES-10/3-09/00 (1)	ALOA one day
	AFNOR BIO-12/4-02/95 (1)	Accuprobe <i>Listeria monocytogenes</i>
	AFNOR BIO-12/9-07/02 (1)	VIDAS <i>Listeria monocytogenes</i> 2 (enrichissement à 30°C)
	AFNOR BIO-12/11-03/04 (1)	VIDAS <i>Listeria monocytogenes</i> 2 (enrichissement à 37°C)
	AFNOR BIO-12/14-04/05 (1)	Ottaviani Agosti Agar
	AFNOR BIO-12/18-03/06 (1)	VIDAS <i>Listeria</i> DUO
	AFNOR BKR-23/02-11/02 (1)	Compass <i>Listeria</i> agar (recherche)
	AFNOR BRD-07/4-09/98 (1)	Rapid L'mono (recherche)
	AFNOR BRD-07/10-04/05 (1)	IQ-check <i>Listeria monocytogenes</i>
	AFNOR CHR-21/01-12/01 (1)	CHROMagar <i>Listeria</i>
	AFNOR GEN-25/02-07/04	GeneDisc cycler <i>Listeria monocytogenes</i>
	AFNOR UNI-03/4-04/05	Oxoid Chromogenic <i>Listeria</i> Agar

(1) Méthode alternative validée selon l'ISO 16.140.

Les méthodes d'analyse traditionnelles des bactéries pathogènes sont le plus souvent des méthodes de recherche visant à détecter la présence de la bactérie. Les différentes étapes en sont généralement un pré-enrichissement peu sélectif, suivi d'un enrichissement dans un milieu de culture liquide permettant la croissance optimale du microorganisme-cible, un isolement sur un milieu de culture gélifié contenant des facteurs inhibant la croissance d'autres microorganismes, et une confirmation au moyen de tests biochimiques, immunologiques ou génétiques.

Il existe actuellement une norme internationale pour la recherche de *Salmonella* (ISO 6579), *Campylobacter* (ISO 10.272), *Yersinia enterocolitica* (ISO 10.273), *E. coli* O157 (ISO 16.654), et le dénombrement d'*E. coli* (ISO 16.649), des germes aérobies totaux (ISO 4833), des entérobactéries (ISO 21.528), et de *Pseudomonas* (ISO 13.720) (Organisation internationale de normalisation, 1995, 2001b, 2001a, 2002, 2003b, 2003a, 2004, 2006). L'Union européenne, par l'intermédiaire de son règlement (CE) n°2073/2005 préconise ces méthodes comme méthodes de référence pour les opérateurs du secteur agro-alimentaire (Commission européenne, 2005b). Cependant, les auteurs des études réalisées sur des carcasses et viandes de bovins, porcins et volaille utilisent le plus souvent des méthodes publiées dans des études scientifiques ou par l'autorité en charge de la sécurité alimentaire, telle que la « Food Safety and Inspection » correspondant au service d'inspection du département de l'agriculture des USA ou la Health Protection Agency au Royaume-Uni (Sofos *et al.*, 1999a; Rho *et al.*, 2001; Eblen *et al.*, 2005; Yeh *et al.*, 2005).

Les tableaux 1.3. et 1.4. spécifient les méthodes utilisées dans quelques études publiées. Aux USA, en Australie, Corée et à Taiwan, ces méthodes consistent généralement en l'utilisation de Pétrifilm (3M) pour le dénombrement des germes aérobies totaux, *E. coli*, entérobactéries et coliformes (Sofos *et al.*, 1999a; Bacon *et al.*, 2000; Ingham et Schmidt, 2000; Sumner *et al.*, 2003; Arthur *et al.*, 2004; Cason *et al.*, 2004; Eblen *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 2005; Yeh *et al.*, 2005). Pour la recherche de *Salmonella*, le pré-enrichissement en eau peptonée tamponnée est suivi d'un enrichissement en milieux tétrathionate et Rappaport-Vassiliadis (Rho *et al.*, 2001; Eblen *et al.*, 2005) et constitue une méthode proche de l'ISO 6579. L'isolement direct sur Campy-Cefex agar est souvent utilisé pour la détection de *Campylobacter* (Cason *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2005). En Europe, le dénombrement des germes aérobies totaux, entérobactéries et *Pseudomonas* est souvent réalisé en utilisant les milieux traditionnels que sont, respectivement, le plate count agar (PCA), le violet red bile agar (VRBA) et une gélose

de base pour *Pseudomonas* supplémentée avec de la céphaloridine, fucidine, et du cétrimide (CFC), mais leur incubation a lieu à des températures variables (25°C, 30°C ou 37°C) pour le PCA. Des méthodes variables sont utilisées pour le dénombrement d'*E. coli* dans ces études (Mead *et al.*, 1993; Hansson, 2001; Murray *et al.*, 2001; Berrang *et al.*, 2002; McEvoy *et al.*, 2004; Byrne *et al.*, 2005; Miraglia *et al.*, 2005; Pearce et Bolton, 2005; Hutchison *et al.*, 2006). Pour la recherche de *Salmonella*, la méthode ISO 6579, une méthode simplifiée dérivée de celle-ci, ou une méthode basée sur la détection des *Salmonella* mobiles en milieu semi-solide (milieu diasalm ou MSRV) sont utilisées (Uyttendaele *et al.*, 1998; Uyttendaele *et al.*, 1999; Bonardi *et al.*, 2003; Botteldoorn *et al.*, 2003). La recherche de *Campylobacter* est réalisée par une méthode traditionnelle dérivée de la norme ISO 10.272 (Uyttendaele *et al.*, 1999; Elson *et al.*, 2004).

Pour être interprétable, la détection ou le dénombrement de ces différents microorganismes doit être réalisée dans un cadre bien défini qui varie en fonction de l'objectif recherché.

Réglementation des programmes de contrôle et de surveillance

Entamée en janvier 2000, la révision de la législation communautaire sur l'hygiène des denrées alimentaires a donné lieu au « paquet hygiène » dans le but de mettre en place une politique globale et intégrée s'appliquant à toutes les denrées alimentaires de la ferme jusqu'au point de vente au consommateur. Il est composé de cinq textes (les règlements (CE) n°852/2004, 853/2004, 854/2004 et 882/2004, et la directive 2002/99/CE) ayant pour thèmes l'hygiène des denrées alimentaires (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2004a), les règles spécifiques d'hygiène des denrées alimentaires d'origine animale (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2004b), les contrôles officiels des produits d'origine animale destinés à la consommation humaine (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2004c), les contrôles officiels des aliments pour animaux et des denrées alimentaires (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2004d), et les règles de police sanitaire régissant la production, la mise sur le marché et l'importation des produits d'origine animale destinés à la consommation humaine (Conseil de l'Union européenne, 2002). Dans ce cadre, le règlement (CE) n°852/2004 met l'accent sur la définition des objectifs à atteindre en matière de sécurité alimentaire, laissant aux exploitants du secteur alimentaire la responsabilité d'adopter les mesures de sécurité à mettre en œuvre afin de garantir l'innocuité des aliments (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2004a). Le règlement (CE) n°178/2002 précise également qu'aucune denrée

alimentaire ne peut être mise sur le marché si elle est dangereuse et les exploitants du secteur alimentaire sont tenus de retirer du marché les denrées alimentaires constituant un danger pour la santé publique (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2002).

Pour contribuer à la protection de la santé publique et éviter les interprétations différentes, des critères microbiologiques sont repris dans la réglementation. Il s'agit de critères définissant l'acceptabilité d'un produit, d'un lot de denrées alimentaires ou d'un procédé, sur la base de l'absence, de la présence ou du nombre de microorganismes, et/ou de la quantité de leurs toxines/métabolites, par unité(s) de masse, volume, surface ou lot (Commission européenne, 2005b). Des critères de sécurité harmonisés relatifs à l'acceptabilité des denrées alimentaires, et en particulier en ce qui concerne la présence de certains microorganismes pathogènes ont été définis au niveau communautaire dans le règlement (CE) n°2073/2005 (Commission européenne, 2005b). Il reprend, d'une part, des critères de sécurité des denrées alimentaires définissant l'acceptabilité de denrées alimentaires mis sur le marché, et d'autre part des critères d'hygiène du procédé indiquant l'acceptabilité du procédé de production, mais non applicables aux produits mis sur le marché. Le dépassement des critères de sécurité exige le retrait ou rappel des denrées alimentaires (par exemple en cas de dépassement des limites de *Listeria monocytogenes* ou *Salmonella* dans certains aliments), et des mesures correctives destinées à rétablir l'hygiène du procédé. Seule la dernière mesure doit être mise en œuvre quand le second type de critères n'est pas respecté, à savoir en cas de dépassement des limites en germes aérobies totaux, entérobactéries, *Salmonella* sur les carcasses et en germes aérobies totaux ou *E. coli* dans la viande hachée et préparations de viandes (Commission européenne, 2005b).

Dans le but de s'assurer de la conformité avec la législation sur les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et avec les dispositions relatives à la santé animale et au bien-être des animaux, les états-membres doivent également mettre en place des plans de contrôle pluriannuels depuis le 1^{er} janvier 2007, conformément au règlement (CE) n°882/2004 (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2004d).

Ces textes réglementaires sont appliqués et, si nécessaires, transposés dans la législation belge. Les études de référence et contrôles prescrits sont intégrés dans le programme de surveillance annuel qui couvre l'ensemble de la chaîne alimentaire. La méthodologie de détermination du programme de contrôles officiels est basée sur une évaluation du risque, des outils statistiques et la connaissance scientifique (Maudoux *et al.*, 2006).

L'Union européenne et les USA ont également mis en place des programmes de surveillance de leurs filières de production de viande pour réduire la prévalence d'agents pathogènes dans les denrées alimentaires d'origine animale, avec pour objectif la réduction de l'incidence des infections d'origine alimentaire chez l'homme.

Les USA ont mis en place en 1996 un programme de surveillance en quatre volets : (1) la mise en place d'un plan HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) par chaque établissement vis-à-vis des dangers pouvant raisonnablement se produire dans leurs produits, (2) le dénombrement obligatoire d'*E. coli* dans les abattoirs dans le but de vérifier l'efficacité des plans de prévention et de réduction de la contamination fécale, (3) la réduction de la prévalence de *Salmonella* dans les abattoirs et ateliers de production de viande hachée de bœuf, de telle sorte que la contamination soit inférieure à la prévalence moyenne nationale, (4) la rédaction et l'application de procédures de nettoyage et de désinfection. Ce programme était détaillé dans la réglementation et imposé aux établissements. Son implémentation a nécessité des changements fondamentaux aux établissements, au FSIS et à leurs relations. Le FSIS a apporté un support aux établissements (United States Department of Agriculture, 1996; Sofos *et al.*, 1999a).

Au niveau international, la norme ISO 22.000 harmonise les pratiques de management de la sécurité des aliments. Elle couvre l'ensemble des activités constituant la chaîne alimentaire avec pour objectif de la sécurité des aliments à tous les niveaux, et ce en reprenant 5 éléments essentiels : l'approche systémique, la communication interactive, la traçabilité, les programmes préalables et le plan HACCP (Organisation internationale de normalisation, 2005b).

En Europe, un règlement et une directive sont complétés par des textes spécifiques visant à lutter contre les agents zoonotiques, dont en particulier *Salmonella* et *Campylobacter*. Il s'agit, d'une part, du règlement (CE) n°2160/2003 du Parlement européenne et du Conseil du 17 novembre 2003 sur le contrôle des salmonelles et d'autres agents zoonotiques spécifiques présents dans la chaîne alimentaire qui vise la mise en place de mesures adaptées et efficaces pour détecter et contrôler les agents zoonotiques à tous les stades pertinents de la production, de la transformation et de la distribution, en particulier au niveau de la production. Il a pour objectif la réduction de la prévalence de ces microorganismes et des risques qu'ils représentent pour la santé publique. Ce règlement donne des objectifs à atteindre en termes de prévalence de *Salmonella* pour les cheptels de volailles de reproduction, les poules pondeuses, les poulets de chair, les dindes, les porcs d'élevage et d'abattage (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003b). D'autre part, d'autres agents zoonotiques doivent être surveillés, selon la directive 2003/99/CE du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques. Il s'agit de *Salmonella*, *Campylobacter*, *Echinococcus*, *Listeria*, *Brucella*, *Trichinella*, *Mycobacterium bovis* et des *E. coli* entérohémorragiques. D'autres agents tels que *Yersinia* sont à surveiller en fonction de la situation épidémiologique (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003a). Plus particulièrement, une surveillance de *Salmonella*, *C. jejuni* et *C. coli* doit être réalisée chez les bovins, porcins et volailles ainsi que leurs viandes. Ces filières doivent faire l'objet de programmes de contrôle nationaux des agents zoonotiques pour lesquels des objectifs communautaires sont fixés. En ce qui concerne *Salmonella*, les objectifs sont à atteindre pour 2010 au plus tard.

Pour déterminer ces objectifs, des études de référence sont réalisées et déterminent la prévalence de certains sérotypes de *Salmonella* et de *Campylobacter*. La première étude a été réalisée dans les cheptels de poules pondeuses entre octobre 2004 et septembre 2005. Elle a montré que 30,8% des exploitations de l'Union européenne étaient contaminées par *Salmonella*, avec une variation entre 0% et 79,5% (Community Reference Laboratory on the Epidemiology of Zoonoses, 2005; European Food Safety Authority, 2007a). En 2005-2006, 23,7% des troupeaux de poulets de chair étaient positifs à *Salmonella*, avec une variation entre 0% et 68,2% des élevages nationaux (Commission européenne, 2005a; European Food Safety Authority, 2007b). Des études sont également prévues pour déterminer la prévalence de *Salmonella* chez les porcs de boucherie au niveau de l'abattoir, conformément à la décision 2005/636/CE (Commission européenne, 2006a), les carcasses de poulets de chair, ainsi que la

prévalence et le niveau de contamination par *Campylobacter* dans les troupeaux et carcasses de poulets de chair (Commission européenne, 2007). Ces programmes nationaux et coordonnés de surveillance sont soutenus financièrement par la Commission et doivent faire l'objet d'un rapportage (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003b). Ils peuvent être réalisés par l'autorité compétente ou sous sa supervision. En Belgique, elles le sont par l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire.

Les moyens de lutte par l'utilisation de vaccins ou d'antimicrobiens sont autorisés dans certains cas, comme le prévoient les règlements (CE) n°1091/2005 et 1177/2006 (Commission européenne, 2005d, 2006c).

Des objectifs communautaires de réduction de la prévalence de certains sérotypes de *Salmonella* ont été fixés pour les cheptels de volailles reproductrices et les poules pondeuses. Pour les premiers, le pourcentage maximal de cheptels positifs de plus de 250 animaux adultes doit être de 1% au 31/12/2009. Un pourcentage annuel minimal de réduction doit être atteint en 2008 pour les poules pondeuses, comme le prévoient les règlements (CE) n°1003/2005 et 1168/2006 (Commission européenne, 2005c, 2006b).

La surveillance de la résistance aux antimicrobiens est associée à cette surveillance des zoonoses et agents zoonotiques ; l'étude épidémiologique de foyers de toxi-infections alimentaires et les échanges d'informations concernant ces zoonoses doivent également être réalisés selon la directive 2003/99/CE (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003a). Chaque année, un rapport des tendances des agents zoonotiques est publié par l'EFSA. Il s'agit d'une compilation et d'une interprétation des données collectées dans les états-membres au niveau de l'homme, des aliments, des animaux et aliments pour animaux (European Food Safety Authority, 2006).

En conclusion, trois types de surveillance permettent de vérifier l'efficacité des mesures prises dans le but de diminuer les zoonoses. La première est le suivi de l'hygiène et d'indicateurs par le dénombrement des flores indicatrices. La deuxième est la surveillance d'index pour certains pathogènes tels que *Salmonella* et *Campylobacter*. La troisième est la recherche ou le dénombrement direct des flores pathogènes. Les objectifs recherchés déterminent le type de surveillance à réaliser, les 3 types de suivis devant être réalisés pour un même établissement.

Objectifs

2 OBJECTIFS

L'objectif principal de ce travail était de déterminer la pertinence de l'utilisation d'indicateurs de contamination fécale pour surveiller et maîtriser la contamination des filières belges de production de produits carnés par *Salmonella* et *Campylobacter*.

Dans le cadre de l'autocontrôle au sein des établissements, la vérification des plans HACCP est réalisée notamment par la détermination de la présence ou du niveau de contamination par les agents pathogènes et les microorganismes indicateurs d'hygiène. Les états-membres doivent également mettre en place des plans nationaux de surveillance pluriannuels. Ces plans doivent prévoir la recherche des flores pathogènes, éventuellement accompagnée du dénombrement de flores indicatrices afin de permettre une interprétation critique des contaminations par les pathogènes. Outre le choix des microorganismes, il faut veiller à différents parties intégrantes du programme de surveillance, éléments qui doivent être définis et, dans la mesure du possible, standardisés, en fonction de l'objectif poursuivi :

- la représentativité de l'échantillon dans la population,
- la méthode de prélèvement,
- la méthode d'analyse,
- le mode d'exploitation des résultats,
- l'interprétation des résultats et éventuellement les mesures à prendre.

Dès lors, **le premier objectif** était de proposer aux autorités belges des plans de surveillance des principales bactéries pathogènes dans les filières de production et de transformation des viandes.

Fin 2005, la Commission européenne a défini des critères de sécurité harmonisés relatifs à l'acceptabilité des denrées alimentaires et des critères d'hygiène du procédé indiquant l'acceptabilité d'un procédé de production (Commission européenne, 2005b). Cela a eu pour conséquence une adaptation des plans de surveillance des filières de production de viande. **Le deuxième objectif** était de comparer – sur base des résultats de l'année 2005 - les méthodes destructive et non-destructive d'échantillonnage des carcasses de porcs, pour déterminer la pertinence de la méthode belge par écouvillonnage. Cette comparaison concernait le dénombrement d'*E. coli* et de germes aérobies totaux ainsi que la recherche de *Salmonella* et de *Campylobacter*.

Les agents pathogènes les plus fréquemment recherchés dans les denrées alimentaires d'origine animale sont *Salmonella* et *Campylobacter*, les deux principaux agents responsables de toxi-infections alimentaires d'origine bactérienne en Belgique. Dès lors, **le troisième objectif** était de suivre l'évolution – dès l'année 2000 - de la contamination par *Salmonella* et *Campylobacter* des viandes de bovin, de porc et de volaille.

Les germes aérobies totaux, les entérobactéries ou les *E. coli* sont souvent dénombrés dans le cadre de la surveillance des indicateurs d'hygiène des procédés dans les denrées alimentaires d'origine animale. **Le quatrième objectif** était de juger de la pertinence du suivi des principaux indicateurs d'hygiène et de bonnes pratiques lors des processus de transformation en tenant compte de leur évolution dès 2000 et, enfin, de leur qualité d'index des principales bactéries pathogènes non sporulées d'origine digestive. Cette partie visait aussi à établir une méthodologie pour fixer des critères d'hygiène des procédés adaptés à la Belgique pour les carcasses et la viande de boeuf, de porc et de volaille.

Ces différentes études ont nécessité l'analyse, l'étude critique et le traitement de dizaines de milliers de résultats de dénombrements, de recherches représentant une dizaine d'années de surveillance de l'ensemble des filières de production de viande, de l'abattoir au détaillant.

Méthodologie

3 METHODOLOGIE

Depuis 1997 en Belgique, les autorités compétentes (d'abord l'Institut d'expertise vétérinaire et ensuite l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire) ont mis en place chaque année des plans de surveillance des agents zoonotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. Ces surveillances visaient à déterminer la situation nationale en termes de bactéries zoonotiques et d'indicateurs de contamination fécale afin de suivre son évolution.

La première phase de surveillance a été réalisée pendant trois ans, de 1997 à 1999 et constituait une étude introductive qui a été menée dans des abattoirs, piscicultures et ateliers de découpe belges. Les principales filières de production carnée en Belgique ont été testées durant un à trois ans en fonction de l'importance de la production. Les bactéries pathogènes zoonotiques les plus souvent responsables de toxi-infection d'origine alimentaire en Europe et aux Etats-Unis ont été recherchées dans ces différents échantillons (*Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* O157 entérohémorragiques, *Yersinia enterocolitica*). Différentes quantités des mêmes échantillons ont été testées pour, d'une part, déterminer laquelle permettait de suivre au mieux l'évolution de la contamination, et d'autre part, réaliser une estimation semi-quantitative de la contamination par *Salmonella* et *Campylobacter*. Dans ce but, différents volumes de suspension-mère ont été prélevés avant le préenrichissement, ce qui a permis d'obtenir un résultat exprimé en présence ou absence dans 600 cm², 24 cm² ou 2,4 cm² (pour les carcasses de porcs), ou dans 25 g, 1 g, 0,1 g ou 0,01 g (pour les autres types d'échantillons). Le dénombrement d'*E. coli* en tant qu'indicateur de contamination fécale a également été réalisé dans les échantillons en 1998 et 1999. Le tableau 3.1. montre les types d'échantillons prélevés et les bactéries recherchées de 1997 à 1999. Cette étude introductive a permis de déterminer les paramètres en fonction de la nature des échantillons, et les quantités de l'échantillon à analyser.

Tableau 3.1. : Types d'échantillons prélevés et agents pathogènes recherchés de 1997 à 1999 et années durant lesquelles ces analyses ont été réalisées

Echantillon		Microorganisme recherché			
		<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>E. coli O157</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Porc	Carcasses	1997-1999	1997-1999	1997	1997
	Foie	1997-1999	1997-1998	1997	1997
	Découpe	1997-1999	1997-1999	1997	1997
	Haché	1997-1999	1997-1999	1997	1997
Volaille	Carcasses de poulets (peau du cou)	1997-1999	1997-1999	1997	1997
	Poulets (foies)	1997-1999	1997-1998	1997	1997
	Poulets (filets)	1997-1999	1997-1999	1997	1997
	Carcasses de poules (peau du cou)	1997-1999	1997-1999	1997	1997
	Carcasses de dindes (peau du cou)	1997-1999	1997-1998	1997	1997
Bovin	Carcasses	1997	1997	1997-1999	1997
	Foies	1997	1997	1997	1997
	Découpe	1997	1997	1997	1997
	Haché	1997	1997	1997, 1999	1997
Veau	Carcasses	1997	1997	1997	1997
	Foies	1997	1997	1997	1997
	Haché	1997	1997	1997	1997
Lapin	Carcasses	1997	1997	1997	1997
Poisson	Poissons de piscicultures	1999	1999	1999	

La deuxième phase de la surveillance a débuté en février 2000 (tableau 3.2.). L'accent a été mis sur la représentativité de l'échantillonnage, dans le but de déterminer la situation nationale et son évolution. Différentes catégories d'entreprises ont été échantillonnées : abattoirs, ateliers de découpe et de transformation, grandes surfaces et boucheries. Des entreprises agréées pour l'exportation et de faible capacité étaient échantillonnées à une fréquence différente en fonction de leur volume de production et de leur localisation géographique.

Les principales filières de production carnée en Belgique ont été surveillées chaque année (carcasses, viandes de découpes et viandes hachées de bœuf, de porc et de volaille). Des produits tels que des préparations à base de viande hachée de volaille crue, du pâté, du jambon, du saucisson et du saumon fumé ont également été prélevés. Au moins 150 échantillons de chaque type ont été prélevés chaque année, de telle sorte que la probabilité de détecter un taux réel de contamination de 2% était de 95%.

Au moins 5 échantillons étaient prélevés par an dans chacun des abattoirs et ateliers de découpe et de transformation, pour pouvoir évaluer la prévalence des bactéries pathogènes et le niveau de contamination par des bactéries indicatrices de chacune des entreprises par rapport à la situation nationale. *Salmonella* et *Campylobacter*, les bactéries les plus fréquemment responsables de gastro-entérites d'origine alimentaire, ainsi que *E. coli* O157 entérohémorragique et *Listeria monocytogenes* ont été recherchés.

Tableau 3.2. : Types d'échantillons prélevés et agents pathogènes recherchés de 2000 à 2006 et années durant lesquelles ces analyses ont été réalisées

Echantillon		Microorganisme analysé			
		<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>E. coli</i> O157	<i>Listeria monocytogenes</i>
Porc	Carcasses	2000-2005	2005	2000	
	Découpe	2000-2005		2000	
	Haché	2000-2005	2000-2001, 2005	2000	2000-2006
Volaille	Carcasses de poulets (peau du cou)	2000-2005	2000-2005	2001	
	Poulets (filets)	2000-2005	2000-2005	2001	
	Carcasses de poules (peau du cou)	2000-2005	2000-2005	2001	
	Préparation à base de viande hachée crue de poulet	2002-2005	2002-2005		2002-2004, 2006
Autruche	Découpe	2002			
Canard	Magret	2002			
Bovin	Carcasses	2001-2002		2000-2006	
	Découpe	2002-2003		2002-2006	
	Haché	2000-2005	2000-2001	2000-2006	2000-2006
Veau	Carcasses			2000	
Poisson	Saumon-elbot fumés				2002-2006
Charcuterie	Salami	2000			2000, 2001, 2003-2005
	Pâté de viande				2000-2006
	Jambon cuit				2000-2006
	Jambon cru	2005			

Les *E. coli*, germes aérobies totaux et entérobactéries (tableau 3.3.) ont également été dénombrés sur les mêmes échantillons (ainsi que sur des carcasses de chevaux et de moutons) jusqu'à 2003 ; à partir de 2004, les résultats des dénombrements ont été utilisés uniquement pour déterminer la conformité ou non-conformité des échantillons individuels sans qu'une exploitation des résultats globaux n'ait été effectuée.

Tableau 3.3. : Types d'échantillons prélevés et agents pathogènes recherchés de 2000 à 2003 et années durant lesquelles ces analyses ont été réalisées

Echantillon		Microorganisme analysé		
		<i>E. coli</i>	Germes aérobies totaux	Entérobactéries <i>Pseudomonas</i>
Porc	Carcasses	2000-2005	2001-2005	2001
	Découpe	2000-2003		
	Haché	2000-2003		
Volaille	Carcasses de poulets (peau du cou)	2000-2003	2003	2002
	Poulets (filets)	2000-2003	2000-2003	
	Carcasses de poules (peau du cou)	2000-2003	2003	2002
	Préparation à base de viande hachée crue de poulet	2002-2003		
Autruche	Découpe	2002		
Canard	Magret	2002		
Bovin	Carcasses	2000-2003	2001-2002, 2003	2001
	Découpe	2002-2003		
	Haché	2000-2003		
Veau	Carcasses	2000		
Poisson	Saumon-elbot fumés			2002-2003
Charcuterie	Salami	2000		2001, 2003
	Pâté de viande	2000		2001-2003
	Jambon cuit	2000		2001-2003
Mouton	Carcasses	2002	2002	
Cheval	Carcasses	2002	2002	

A partir de 2004, les plans de surveillance des microorganismes dans les denrées alimentaires d'origine animale en Belgique ont été intégrés dans le programme de contrôle de l'ensemble de la chaîne alimentaire de l'AFSCA. Les plans de surveillance réalisés jusqu'en 2003 ont servi de base aux nouveaux plans de surveillance des microorganismes dans les denrées alimentaires. Le nouveau système de surveillance est adapté annuellement aux nouvelles connaissances scientifiques et exigences légales.

Le présent travail se focalise sur la surveillance de *Salmonella*, *Campylobacter* et des microorganismes indicateurs de 1997 à 2003 sur les principales filières belges de production de viande. Les évolutions ultérieures seront brièvement évoquées. Les autres résultats sont disponibles dans les rapports publiés par l'AFSCA ou auprès des auteurs.

Résultats

4 RESULTATS

Surveillance d'*E. coli* O157, de *Yersinia enterocolitica* et de *Listeria monocytogenes*

La surveillance du taux de contamination des denrées alimentaires d'origine animale par des souches d'*E. coli* entérohémorragiques de sérotype 0157 en Belgique a été décrite par Chahed et collaborateurs (Chahed *et al.*, 2005; Chahed, 2007). L'étude réalisée de 2000 à 2003 a mis en évidence une faible prévalence d'*E. coli* entérohémorragique de sérotype 0157 sur les carcasses de bœuf (0,75% sur un total de 5.583 échantillons), dans la viande hachée de bœuf (0,22% sur un total de 1.367 échantillons) et dans la viande de découpe de bœuf (0,38% sur un total de 520 échantillons), sans évolution significative depuis 2000 (tableau 4.1.). Cette bactérie n'a été détectée dans aucun des autres types d'échantillons analysés (Chahed *et al.*, 2005; Chahed, 2007; Working group on foodborne infections and intoxications, 2007, 2008).

Tableau 4.1. : Résultats de la recherche d'*E. coli* entérohémorragiques de sérotype 0157 de 2000 à 2006

Echantillons Dilution analysée			Nombre d'échantillons (n) et prévalence								
			2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2000-2006	
Bovins	Carcasses	1600 cm ² n	1.501	1.388	1.215	1.479	1.337	2.544	1.214	10.678	
		prévalence	0,4%	0,9%	1,1%	0,7%	1,4%	1,1%	0,9%	0,9%	
	Découpe	25 g n		222	285	244	307	243	1.301		
		prévalence		0,0%	0,7%	0,8%	1,0%	0%	0,5%		
	Haché	25 g n	487	298	297	298	234	452	86	2.152	
		prévalence	0,2%	0,0%	0,0%	1,7%	0,0%	0,2%	0%	0,3%	

La recherche de *Yersinia enterocolitica* a été réalisée en utilisant la méthode officielle belge (SP-VG-M004) dérivée de la méthode ISO 10.273 (Organisation internationale de normalisation, 1994), prévoyant un enrichissement en milieu ITC (bouillon à l'iragasan, à la ticarcilline et au chlorate de potassium) incubé 46 à 50h à 25°C suivi d'un isolement sur milieu SSDC (gélose *Salmonella/Shigella*, au désoxycholate de sodium et au chlorure de calcium) incubé 22 à 50h à 30°C, de tests biochimiques de confirmation et de la recherche des antigènes O:3 de *Yersinia enterocolitica* au moyen d'une agglutination. Les résultats de 1997 sont présentés au tableau 4.2. Etant donné la très faible prévalence de ce microorganisme dans l'ensemble des échantillons testés en 1997 (1,9% sur les carcasses de porcs, aucune détection sur les autres échantillons), il n'a plus été recherché de 1998 à 2003 (Working group on foodborne infections and intoxications, 2006, 2007, 2008). Les analyses réalisées de 2004 à 2006 confirment la très faible prévalence de *Yersinia enterocolitica* dans la viande hachée de porc (tableau 4.3.).

Tableau 4.2. : Résultats de la recherche de *Yersinia enterocolitica* en 1997

	Echantillons	Dilution analysée	Nombre d'échantillons	Prévalence
Porcs	Carcasses	24 cm ²	120	1,9%
	Foie	28 cm ²	120	0,0%
	Découpe	1 g	120	0,0%
	Haché	1 g	120	0,0%
Volailles	Carcasses de poulets (peau du cou)	1 g	60	0,0%
	Poulets (foies)	1 g	60	0,0%
	Poulets (filets)	1 g	60	0,0%
	Carcasses de poules (peau du cou)	1 g	60	0,0%
	Carcasses de dindes (peau du cou)	1 g	60	0,0%
Bovins	Carcasses	16 cm ²	120	0,0%
	Foies	16 cm ²	120	0,0%
	Découpe	1 g	120	0,0%
	Haché	1 g	120	0,0%
Veaux	Carcasses	16 cm ²	120	0,0%
	Foies	16 cm ²	120	0,0%
	Haché	1 g	120	0,0%
Lapin	Carcasses	16 cm ²	60	0,0%

Tableau 4.3. : Résultats de la recherche de *Yersinia enterocolitica* de 2004 à 2006

Echantillons		Dilution analysée		Nombre d'échantillons (n) et prévalence			
				2004	2005	2006	2004-2006
Porcs	Haché	1 g	n	301	448	188	937
			prévalence	0,0%	0,9%	0,0%	0,4%

Pour la recherche de *Listeria monocytogenes*, les méthodes utilisées étaient Vidas *Listeria monocytogenes* (AFNOR BIO-12/3-03/96, Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) ou Vidas *Listeria monocytogenes* 2 (AFNOR BIO-12/9-07/02, Biomérieux) qui ont été suivies d'une confirmation sur milieu chromogène. Elles consistent en un pré-enrichissement en bouillon Fraser-demi incubé 22 à 26h à 30°C, suivi d'un enrichissement en bouillon Fraser incubé 24h à 30°C, d'un immuno-essai Vidas LMO, d'une confirmation sur milieu gélosé chromogène (milieu ALOA ou Rapid L.mono (AFNOR BRD-07/4-09/98, Bio-Rad, Marnes La Coquette)) incubé 24h à 48h à 37°C et d'un sérotypage au laboratoire national de référence (Institut scientifique de santé publique). Les résultats sont présentés au tableau 4.4.

Tableau 4.4. : Résultats de la recherche de *Listeria monocytogenes* de 2000 à 2006

Echantillons Dilution analysée				Nombre d'échantillons (n) et prévalence							
				2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2000-2006
Porc	Haché	1 g	n	308	300	300	298	303	283	123	1915
			Prévalence	25,0% a,b,c,d	18,3% a,e	20,7% f,g	21,5% h,i	17,6% b,j	10,2% c,e,f,h,j	11,4% d,g,i	18,5%
		0,01 g	n					152	155		307
			Prévalence					5,3%	1,3%		3,3%
Volaille	Préparation à base de viande hachée crue de poulet	1 g	n			80	95			763	938
			Prévalence			33,8% k	60,0% k,l			30,1% l	33,5%
		0,01 g	n					330	387		717
			Prévalence					7,9%	7,4%		7,6%
Bœuf	Haché	25 g	n							67	67
			Prévalence							14,9%	14,9%
		1 g	n	488	298	299	299	236	284		1904
			Prévalence	16,0% m,n	14,8% o,p	13,7% m	10,7% m	13,6% q	6,7% n,o,p,q		12,9%
		0,01 g	n					98	171		269
			Prévalence					2,0%	1,2%		1,5%
Poisson	Saumon-elbot fumés (en sortie de production)	25 g	n			78	86	63	145	150	522
			Prévalence			23,1% r	22,1% s	8,0% r,s,t	15,7%	21,3% t	18,5%
		0,01 g	n			62	59	59			180
			Prévalence			6,5%	5,1%	3,4%			5,0%
Charcuterie	Pâté de viande	25 g	n	300	304	298	402	243	286	79	1912
			Prévalence	4,3% u,v	4,9% w,x	5,4% y,z	4,0%	1,2% u,w,y	1,4% v,x,z	1,3%	3,6%
		0,01 g	n					326	90		416
			Prévalence					0,9%	0,0%		0,7%
	Jambon cuit	25 g	n	299	304	299	395	266	291	69	1923
			Prévalence	6,0% aa	4,6%	3,0%	2,5% aa	3,8%	4,5%	1,5%	3,9%
		0,01 g	n					350	159		509
			Prévalence					0,3%	0,0%		0,2%
	Salami	25 g	n	306							306
			Prévalence	16,0%							16,0%
		1 g	n		302		397	224	254		1177
			Prévalence		8,6% ab		9,8% ac	8,0%	3,9% ab,ac		7,9%
		0,01 g	n					78	92		170
			Prévalence					1,3%	0,0%		0,6%

Pour le même type d'échantillon, les valeurs ayant les mêmes lettres sont significativement différentes (Test de Fisher, $P < 0,05$).

multiplier dans des endroits réfrigérés, la probabilité d'en retrouver augmente avec sa durée de conservation. Une autre hypothèse est l'amélioration de l'hygiène aux stades de la production, de la transformation et de la distribution par la mise en place de plans HACCP, de systèmes d'autocontrôle et de la notification obligatoire (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2003a, 2004).

Plans de surveillance belges pour déterminer les changements de prévalence de *Salmonella* dans la viande à différentes étapes de la production

La détermination de la prévalence de *Salmonella* a été mise au point lors de l'étude introductive (de 1997 à 1999) et s'est poursuivie lors de la surveillance qui a eu lieu de 2000 à 2003.

Lors des 3 premières années, différentes dilutions des mêmes échantillons ont été analysées pour, d'une part, déterminer la dilution permettant de suivre au mieux l'évolution de la contamination et, d'autre part, évaluer la contamination des échantillons de façon semi-quantitative.

Durant les 4 années suivantes et ultérieurement, les types d'échantillons et les dilutions analysés étaient semblables, de telle sorte qu'une évolution de la contamination a pu être étudiée pour les carcasses et viandes de porc, poulet, poule et de bœuf. Les souches de *Salmonella* ont été sérotypées et les souches de certains sérotypes ont été lysotypées.

Etude 1

Belgian surveillance plans to assess changes in *Salmonella* prevalence in meat at different production stages

YASMINE GHAFIR^{1,2}, BERNARD CHINA^{2,3}, NICOLAS KORSAK², KATELIJNE DIERICK³, JEAN-MARC COLLARD³, CLAUDINE GODARD³, LIEVEN DE ZUTTER⁴, GEORGES DAUBE²

¹ Belgian National Reference Laboratory in Food Microbiology for the Federal Agency for the Safety of the Food Chain, University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Sciences, Microbiology, Bat. B43b, Sart Tilman, 4000 Liege, Belgium,

² University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Sciences, Microbiology, Liege, Belgium

³ Scientific Institute of Public Health, Brussels, Belgium

⁴ University of Ghent, Faculty of Veterinary Medicine, Food Microbiology, Ghent, Belgium

J. Food Prot., 2005, **68**, 2269-2277

ABSTRACT

From 1997 to 1999, the prevalence of *Salmonella* was assessed at different stages through the pork, poultry, and beef meat production chains. Different dilutions of the initial sample suspension were analyzed to provide a semiquantitative evaluation of *Salmonella* contamination and to determine the most representative dilution necessary to detect a reduction in prevalence. An average of 300 samples for each type of meat were analyzed. According to Fisher's exact test, the dilution to be used to detect a reduction in prevalence was chosen based on an initial prevalence of 20 to 26%. Based on this introductory study, a new sampling plan representative of the nationwide Belgian meat production process was used from 2000 through to 2003. This study confirmed the consistently high rate and level of contamination of poultry meat: broiler and layer carcasses were the most contaminated samples followed by broiler fillets and poultry meat preparations. A constant and significant decrease in *Salmonella* prevalence was observed for pork carcasses, trimmings, and minced meat and for beef minced meat. Less than 3% of beef carcasses and trimming samples were positive for *Salmonella*. The Belgian plan, as utilized from 2000 to 2003, was suitable for monitoring of zoonoses because the sampling plan was representative of nationwide production processes, covered all periods of the year, and was executed by trained samplers and the analyses were carried out by recognized laboratories using an identical analytical method.

L'étude semi-quantitative de la contamination par *Salmonella* a servi de base à la détermination de critères provisoires dans les préparations de viande à base de viande hachée de volaille réalisée par le Conseil supérieur de la santé, anciennement dénommé Conseil supérieur d'hygiène, dans son avis CSH n°7.947 « Analyse du risque *Salmonella* dans les produits préparés à base de viande de volaille hachée » (Conseil supérieur d'hygiène, 2007).

Les recherches de *Salmonella* réalisées de 2004 à 2006 montrent une diminution significative de sa prévalence ($P < 0,05$) dans les échantillons de porc (viande de découpe et viande hachée) et de poulet (carcasses et viande de découpe de poulet) (tableau 4.5.). Cette diminution prolonge l'amélioration déjà observée entre 2000 et 2003 dans les échantillons de porc tandis qu'elle constitue une première amélioration par rapport aux années 2000 à 2003 pour les échantillons de poulet. L'amélioration de l'hygiène aux différents stades de la production et de la commercialisation, la mise en place de plans HACCP et systèmes d'autocontrôle et l'obligation de notification en sont probablement l'origine (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2003a, 2004).

Tableau 4.5. : Résultats de la recherche de Salmonella de 2004 à 2006

Echantillons		Dilution analysée		Nombre d'échantillons (n) et prévalence			
				2004	2005	2006	2004-2006
Porc	Carcasses	600 cm ²	n	374	442	154	970
			Prévalence	12,3%	9,3%	7,1%	10,1%
	Découpe	25 g	n	241	307	32	876
			Prévalence	10,4% a	7,2% b	2,4% a,b	6,3%
	Haché	25 g	n	437	155	142	734
			Prévalence	9,4% c	6,5% c	3,5% c	7,6%
Volaille	Carcasses de poulets (peau du cou)	1 g	n	266	274	109	649
			Prévalence	7,9% d	5,1% d	1,8% d	5,7%
	Découpe de poulet (avec et sans peau)	1 g	n	282	260	293	835
			Prévalence	20,6% e	14,2% e	13,3% e	16,0%
	Préparation à base de viande hachée crue de poulet	1 g	n	335	269		604
			Prévalence	18,5%	15,9%		17,3%
	Carcasses de poules (peau du cou)	0,1 g	n	51	57	101	209
			Prévalence	19,6%	14,0%	26,1%	21,2%
Bovin	Carcasses	1600 cm ²	n			69	69
			prévalence			0,0%	0,00%
	Haché	25 g	n	328	451	110	889
			prévalence	2,1%	1,1%	0,9%	1,4%
Charcuterie	Jambon cru et autres charcuteries à base de viande crue de porc	25 g	n	114	119	21	254
			prévalence	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

Pour le même type d'échantillon, les valeurs ayant les mêmes lettres sont significativement différentes (Test de Fisher, P < 0,05).

Plans de surveillance de la contamination par *Campylobacter* à différentes étapes de la production de viande en Belgique

La prévalence de *Campylobacter* a d'abord été déterminée lors de l'étude introductive qui a eu lieu de 1997 à 1999 et au cours de laquelle différentes dilutions des mêmes échantillons ont été analysées. Cela a permis de déterminer les dilutions à utiliser par la suite et d'évaluer de façon semi-quantitative la contamination des échantillons de volaille et de porc.

La surveillance qui s'est ensuite déroulée de 2000 à 2003 et ultérieurement, a permis d'étudier l'évolution de la contamination des carcasses et viandes de poulet, de poule et de la viande hachée de porc et de bœuf. La contamination des échantillons a été déterminée selon le lieu de prélèvement (site de transformation ou de distribution). Les espèces de *Campylobacter* ont également été déterminées.

Etude 2

A seven-year survey of *Campylobacter* contamination in meat at different production stages in Belgium

YASMINE GHAFIR^{1,2}, BERNARD CHINA^{2,3}, KATELIJNE DIERICK³, LIEVEN DE ZUTTER⁴, GEORGES DAUBE²

¹ Belgian National Reference Laboratory in Food Microbiology for the Federal Agency for the Safety of the Food Chain, University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Sciences, Microbiology, Bat. B43b, Sart Tilman, 4000 Liege, Belgium,

² University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Sciences, Microbiology, Liege, Belgium

³ Scientific Institute of Public Health, Brussels, Belgium

⁴ University of Ghent, Faculty of Veterinary Medicine, Food Microbiology, Ghent, Belgium

Int. J. Food Microbiol., 2007, **116**, 111-120

ABSTRACT

The presence of *Campylobacter* was assessed in different samples of poultry, pork and beef meat and carcasses from slaughterhouses, production plants and retail level. An introductory study from 1997 to 1999, had the purpose of establishing the optimum dilution to detect changes in prevalence and allowed a semi-quantitative estimation of poultry and pork contamination. Following this, between 2000 and 2003, 4254 samples were taken in order to study the trends. The poultry matrixes represented the greatest number and the most highly contaminated samples, with 30.9% (in 0.01 g) positive samples, 18.7% (in 1 g), 46.9% (in 25 g) and 19.6% (in 0.01 g) for broiler carcasses, broiler fillets, prepared chicken and layer carcasses, respectively. Broiler carcasses and fillets sampled at retail level were significantly less contaminated than samples from production plants. Pork, beef and veal samples were rarely contaminated and, where contamination existed, it was at a low prevalence (maximum 5.0%). The high and unvarying prevalence of *Campylobacter* in poultry necessitates the implementation of intervention measures at the primary production level, in addition to methods of minimizing cross-contamination at the processing level. A survey plan in line with the present study could be used in the future to monitor the effects of the planned measures and performance objectives and to follow the evolution of *Campylobacter* contamination at all stages of the food chain, in accordance with European legislation.

Dans le cadre de l'avis du Conseil supérieur de la santé n°7947 (anciennement Conseil supérieur d'hygiène), les études semi-quantitatives réalisées lors de ces plans de surveillance ont servi de base à la contribution à l'évaluation du risque présenté en Belgique par les *Campylobacter* spp. dans les préparations de viande à base de viande hachée de volaille (Conseil supérieur d'hygiène, 2005; Uyttendaele *et al.*, 2006).

Les recherches de *Campylobacter* réalisées de 2004 à 2006 (tableau 4.6.) peuvent être comparées aux analyses réalisées de 1997 à 2003, à l'exception de la viande de découpe de poulet, les échantillons prélevés avant 2004 n'étaient pas recouverts de peau, à l'inverse des échantillons prélevés ultérieurement. La contamination des carcasses de porcs par *Campylobacter* est significativement plus faible en 2004 et 2005 par rapport à la période 1997-1999, mais elle revient en 2006 à une prévalence statistiquement identique à la prévalence observée entre 1997 et 1999 (17,0%). La prévalence de la viande hachée de porc est statistiquement stable de 2000 à 2006, sauf pour l'année 2005 durant laquelle la contamination a baissé de plus d'1% ($P < 0,05$). Les résultats des années ultérieures permettront de confirmer une amélioration de la contamination de ces échantillons.

Les échantillons de volaille, à l'exception des préparations à base de viande de poulet crue, ont vu leur contamination diminuer statistiquement entre 2004 et 2006. Les carcasses de poulet (mais pas les carcasses de poules) sont également statistiquement moins contaminées par *Campylobacter* en 2005 et 2006 par rapport aux années 2000 à 2003 ($P < 0,05$). Cette première amélioration par rapport aux années 2000 à 2003 peut être due au respect de bonnes pratiques d'hygiène aux différents stades de la production et de la commercialisation, à l'amélioration des pratiques d'élevage (Gibbens *et al.*, 2001; Arsenault *et al.*, 2007; Guerin *et al.*, 2007; Allen *et al.*, 2008), à l'intensification de la surveillance des animaux vivants (échantillonnage des caeca à l'abattoir) et à l'obligation de notification (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2003a, 2004).

Tableau 4.6. : Résultats de la recherche de Campylobacter de 2004 à 2006

Echantillons		Dilution analysée		Nombre d'échantillons (n) et prévalence			
				2004	2005	2006	2004-2006
Porc	Carcasses	600 cm ²	n	344	433	418	1195
			Prévalence	4,9% a	7,2% b	13,4% a,b	8,7%
	Haché	25 g	n	427	443	50	920
			Prévalence	2,8% c	0,7% c	2,0%	1,7%
Volaille	Carcasses de poulets (peau du cou)	0,01 g	n	274	347	355	976
			Prévalence	29,9% d,e	16,1% d,f	6,5% e,f	16,5%
	Découpe de poulet (avec et sans peau)	25 g	n	106			106
			Prévalence	60,4%			60,4%
	Découpe de poulet (avec et sans peau)	1 g	n	131	249	326	706
			Prévalence	26,0% g	22,9% h	12,4% g,h	18,6%
	Découpe de poulet (avec et sans peau)	0,01 g	n			40	40
			Prévalence			5,0%	5,00%
	Préparation à base de viande hachée crue de poulet	0,01 g	n	336	356	264	956
			Prévalence	3,3%	3,65%	2,3%	3,2%
	Carcasses de poules (peau du cou)	0,01 g	n	51	121	278	450
			Prévalence	23,5% i	15,7%	8,6% i	12,2%

Pour le même type d'échantillon, les valeurs ayant les mêmes lettres sont significativement différentes (Test de Fisher, $P < 0,05$).

Adaptation des plans de surveillance des carcasses de porcs au contexte européen

En 2005, dans le cadre du programme de contrôle de l'AFSCA de l'ensemble de la chaîne alimentaire, la méthode belge d'échantillonnage des carcasses de porcs par écouvillonnage a été comparée à la méthode destructive, considérée comme méthode référence par la réglementation européenne (Commission européenne, 2005b). A cette fin, le dénombrement d'*E. coli* et des germes aérobies totaux ainsi que la recherche de *Salmonella* et de *Campylobacter* ont été réalisés simultanément par les deux méthodes sur les carcasses prélevées dans les mêmes abattoirs.

La relation entre les résultats des dénombrements d'*E. coli* et de germes aérobies totaux et les résultats des recherches de *Salmonella* et *Campylobacter* a également été déterminée.

Etude 3

Comparison of swabbing and destructive methods for microbiological pig carcass sampling

YASMINE GHAFIR^{1,2}, GEORGES DAUBE²

¹ Belgian National Reference Laboratory in Food Microbiology for the Federal Agency for the Safety of the Food Chain, University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Sciences, Microbiology, Bat. B43b, Sart Tilman, 4000 Liege, Belgium,

² University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Sciences, Microbiology, Liege, Belgium

Lett. Appl. Microbiol., accepted for publication.

ABSTRACT

Aims: To compare the Belgian swabbing sampling method for pig carcasses with the reference destructive method with regard to *E. coli* and aerobic plate counts, *Salmonella* and *Campylobacter* prevalence, and their relationship.

Methods and Results: Recovery was significantly lower for the swabbing method and corresponded to a recovery of 36% for *E. coli* counts and 81% for aerobic plate counts in comparison with the destructive method. There was no significant difference between the swabbing and destructive sampling methods for the prevalence of *Salmonella* or of *Campylobacter*. A higher median for *E. coli* counts was detected for samples where *Salmonella* or *Campylobacter* were detected. The same association was also observed between the median for aerobic plate counts and the presence of *Campylobacter*.

Conclusions: The method of swabbing used, covering 600 cm² on each half-pig carcass, is efficient for the sampling of pig carcasses in comparison with the reference destructive method.

Significance and Impact of Study: This study describes an efficient method for microbiological pig carcass sampling. The Belgian swabbing method should continue to be used to allow the follow-up of bacterial contamination in the Belgian meat production chain.

En 2006, ces résultats ont servi de base à l'avis n° 39-2006 du Comité scientifique de l'AFSCA relatif aux critères d'hygiène des procédés en ce qui concerne le nombre de colonies aérobies, les *Enterobacteriaceae* et *Salmonella* dans le cadre de l'application du règlement (CE) n°2073/2005 (Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2006). Cet avis a évalué les modalités de surveillance actuellement utilisées en Belgique afin de fixer la méthode officielle.

Surveillance des germes indicateurs d'hygiène des procédés dans les denrées alimentaires d'origine animale en Belgique

Le dénombrement des *E. coli*, des entérobactéries, des germes aérobies totaux et des *Pseudomonas* spp a été réalisé lors de la surveillance qui s'est déroulée de 2000 à 2003, et ultérieurement. La moyenne géométrique, la médiane et les percentiles 75 et 95 ont été calculés pour les échantillons de porc, de bœuf, de poulet et de poule.

La relation entre ces indicateurs d'hygiène et deux agents pathogènes (*Salmonella* et *Campylobacter*) a également été déterminée pour les échantillons de volaille. Il s'agissait, d'une part, d'évaluer si les échantillons dans lesquels *Salmonella* ou *Campylobacter* était détecté contenaient significativement plus de germes indicateurs, et d'autre part, si les échantillons contenant des niveaux plus élevés de germes indicateurs étaient plus souvent contaminés par *Salmonella* ou *Campylobacter*.

Un autre aspect étudié fut l'utilisation des résultats des indicateurs d'hygiène pour proposer une approche de fixation de critères d'hygiène des procédés pour les carcasses de bœuf et de porc.

Etude 4

Hygiene indicator microorganisms for selected pathogens on beef, pork and poultry meats in Belgium

YASMINE GHAFIR^{1,2}, BERNARD CHINA^{2,3}, KATELIJNE DIERICK³, LIEVEN DE ZUTTER⁴, GEORGES DAUBE²

¹ Belgian National Reference Laboratory in Food Microbiology for the Federal Agency for the Safety of the Food Chain, University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Sciences, Microbiology, Bat. B43b, Sart Tilman, 4000 Liege, Belgium,

² University of Liege, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Sciences, Microbiology, Liege, Belgium

³ Scientific Institute of Public Health, Brussels, Belgium

⁴ University of Ghent, Faculty of Veterinary Medicine, Food Microbiology, Ghent, Belgium

J. Food Prot., 2008, **71**, 35-45.

ABSTRACT

Several bacterial indicators are used to evaluate hygiene during the meat slaughtering process. The objectives of this study were to assess the Belgian baseline data on hygienic indicators and the relationship between the indicators and zoonotic agents to establish hygiene indicator criteria for cattle, pig, and chicken carcasses and meat. The study used the results from the official Belgian surveillance plan from 2000 to 2003, which included the monitoring of *Escherichia coli* counts (ECC), *Enterobacteriaceae* counts (EC), aerobic colony counts (ACC), and *Pseudomonas* counts (PC). The sampling method was the wet and dry swabbing technique for cattle and pig carcasses and neck skin excision for broiler and layer chicken carcasses. The 75th and 95th percentiles of ECC were -0.20 and 0.95 log CFU/cm² for cattle carcasses, 1.20 and 2.32 log CFU/cm² for pig carcasses, and 4.05 and 5.24 log CFU/g for chicken carcasses. The ACC were 2.1- to 4.5-log higher than the ECC for cattle, pigs, and chickens. For cattle and pig carcasses, a significant correlation between ECC, EC, and ACC was found. ECC for pork and beef samples and EC in pig carcasses were significantly higher in samples contaminated with *Salmonella*. In poultry samples, ECC were in general higher for samples containing *Salmonella* or *Campylobacter*. Thus, *E. coli* may be considered as a good indicator for enteric zoonotic agents such as *Salmonella* for beef, pork, and poultry samples and for *Campylobacter* in poultry samples.

Au départ de ces résultats de dénombrements des germes indicateurs sur les carcasses de bœuf et de porc (percentiles 75 et 95 des dénombrements d'*E. coli*, et de germes aérobies totaux), des critères ont été établis en 2002 dans le cadre de l'arrêté royal du 28 août 2002 modifiant l'arrêté royal du 4 juillet 1996 relatif aux conditions générales et spéciales d'exploitation des abattoirs et d'autres établissements (Ministère des affaires sociales de la santé publique et de l'environnement, 2002).

Discussion générale

5 DISCUSSION GENERALE

L'objectif principal de ce travail était de déterminer la pertinence de la surveillance et de la maîtrise des indicateurs de contamination fécale pour surveiller et maîtriser la contamination des filières belges de production de produits carnés par *Salmonella* et *Campylobacter*.

1. Quelle est la valeur des plans de surveillance belges ?

L'étude 1 a montré que le plan de surveillance des filières de production et de transformation des viandes utilisé de 2000 à 2003 convenait au monitoring des agents zoonotiques. Différents paramètres ont été testés lors de l'étude introductive qui s'est déroulée de 1997 à 1999. Cette étude introductive a également permis de collecter des résultats permettant une évaluation semi-quantitative de la contamination de certaines filières carnées.

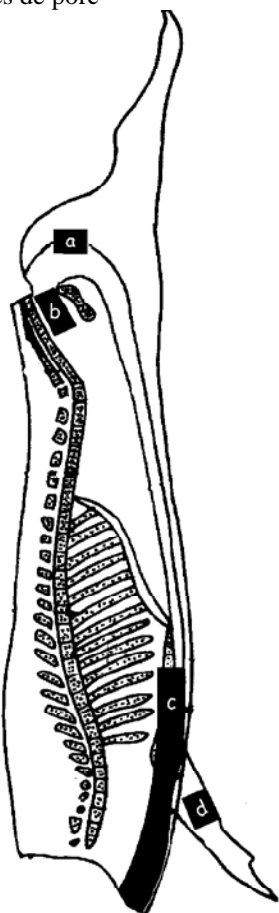
Pour connaître la situation nationale en termes de contamination de la viande par des microorganismes pathogènes, outre le choix des microorganismes, 5 éléments doivent être pris en compte dans la mise en place d'un plan de surveillance.

Le premier élément est la représentativité de l'échantillon dans la population. En 2000, les spécificités du plan de surveillance ont été choisies pour permettre une détection optimale de la réduction de la prévalence des microorganismes pathogènes d'une année à l'autre. Il s'agissait du nombre d'échantillons à prélever, et de la dilution de l'échantillon de départ à utiliser lors de l'analyse de laboratoire et de l'expression du résultat. Tous les abattoirs de bovins, de porcs et de volaille, exceptés ceux de faible capacité, ont été échantillonnés chaque année. Le nombre de carcasses échantillonnées par abattoir était proportionnel au nombre d'animaux abattus par an. Les salles de découpe ayant la plus grande production étaient échantillonnées chaque année, les autres établissements étant sélectionnés de façon aléatoire et variaient d'année en année. Au stade de la distribution, les établissements étaient choisis de manière aléatoire en fonction de leur volume de production et de leur localisation. Les trois facteurs considérés sont donc le type d'établissement, son volume de production et sa localisation. Ils nécessitent de disposer de bases de données précises des établissements nationaux ainsi que du type et de l'importance de leur production.

Le deuxième élément est la méthode de prélèvement. Les échantillons ont été prélevés par des agents de l'AFSCA (principalement des vétérinaires) qui ont été spécifiquement formés aux méthodes de prélèvement, pour garantir leur application uniforme. Ces méthodes ont été choisies pour leur praticabilité au niveau du prélèvement dans l'établissement et de la manipulation au laboratoire. La méthode de prélèvement d'une fraction de la denrée alimentaire lorsqu'elle était disponible en vrac, ou d'un ou de plusieurs portions consommateur a été utilisée pour les échantillons de viande. Pour les carcasses de bovins et de porcins, la technique de l'écouvillonnage humide et sec au moyen de cotons cosmétiques a été choisie (figure 5.1. : zones écouvillonnage).

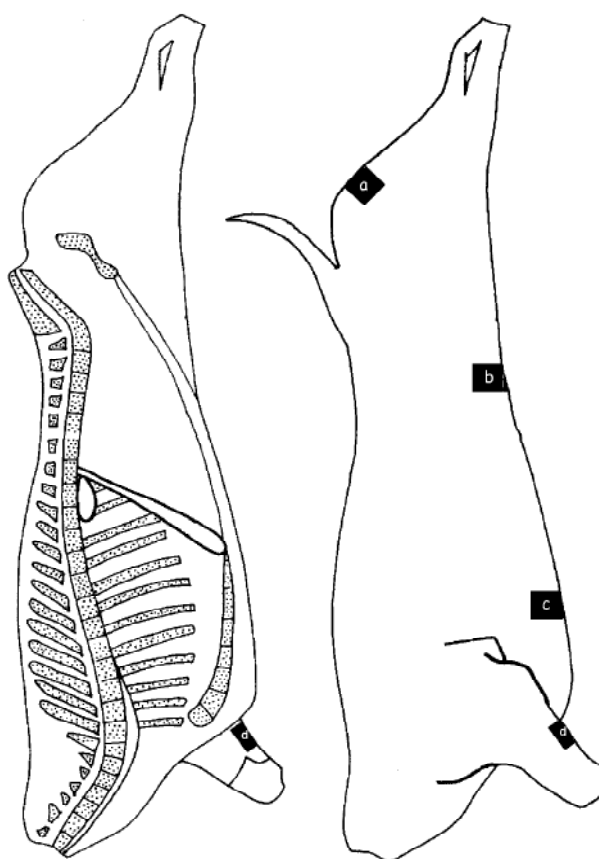
Figure 5.1.: Zones d'écouvillonnage des carcasses de porcs et bovins.

Zones écouvillonnées sur les demi-carcasses de porc



- a. Jambon: 100 cm²
- b. Bassin: 100 cm²
- c. Sternum: 300 cm²
- d. Membre antérieur: 100 cm²

Zones écouvillonnées sur les demi-carcasses de bovin



- a. Rumsteck: 400 cm²
- b. Flanc : 400 cm²
- c. Thorax: 400 cm²
- d. Membre antérieur: 400 cm²

L'étude 3 a montré que, par rapport à la méthode d'échantillonnage destructive dite de référence, la récupération des *E. coli* et des germes aérobies totaux sur les carcasses de porcs est de 64% et 18%, respectivement, par la méthode d'écouvillonnage et qu'aucune différence significative n'est observée pour la prévalence de *Salmonella* et *Campylobacter* même si la prévalence apparente est plus du double pour *Salmonella* avec la méthode d'écouvillonnage qu'avec la méthode destructive (figures 5.2. et 5.3.).

Figure 5.2. : Résultats du dénombrement d'*E. coli* (ECC) et des germes aérobies totaux (ACC) par les méthodes de prélèvement par écouvillonnage et par méthode destructive (carcasses de porcs, étude 3 ; médiane \pm écart-type)

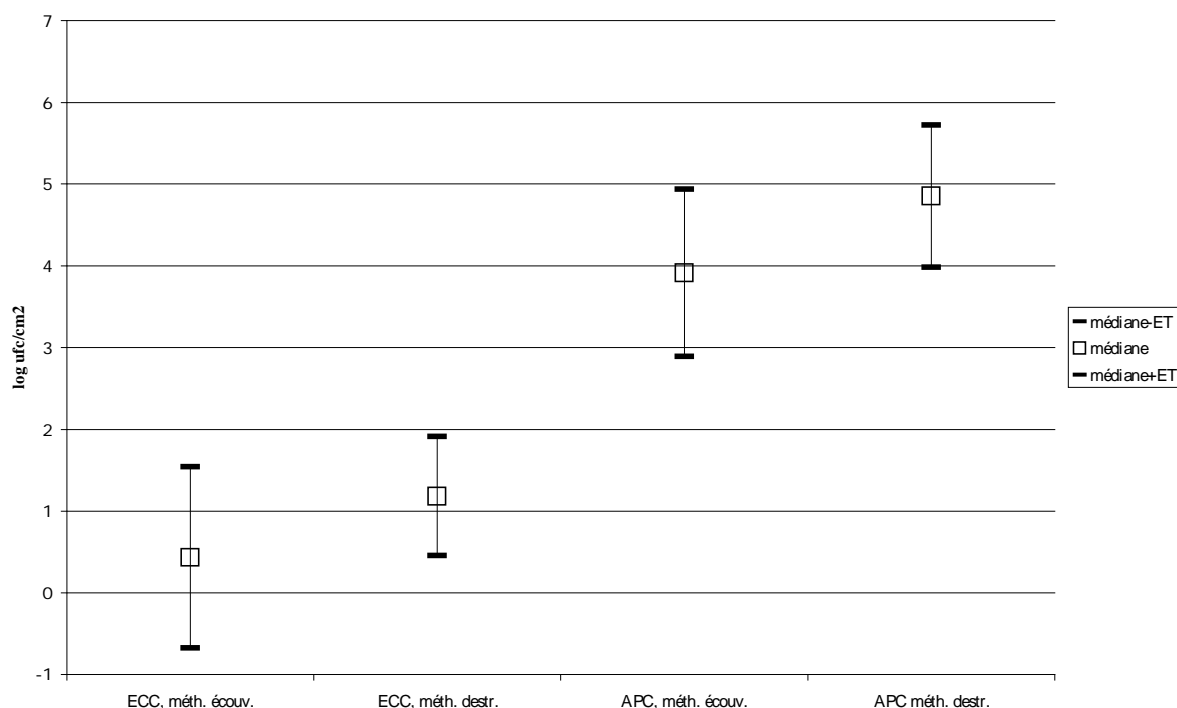
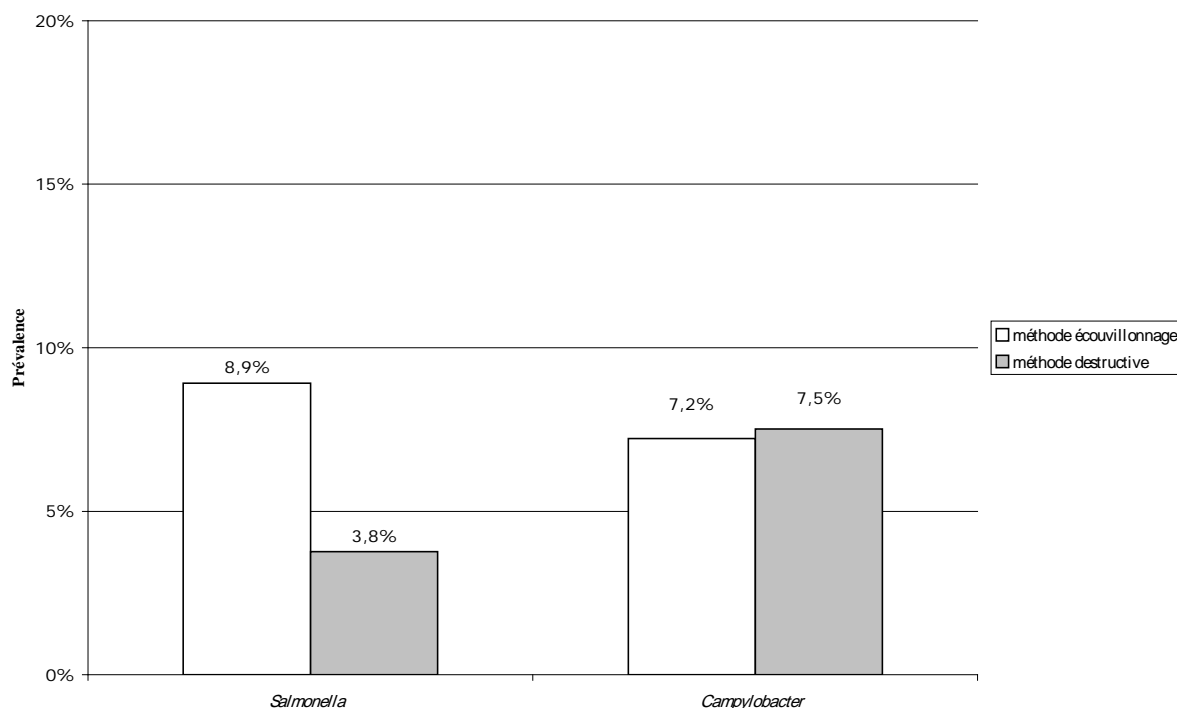


Figure 5.3. : Prévalence de *Salmonella* et *Campylobacter* par les méthodes de prélèvement par écouvillonnage et par méthode destructive (carcasses de porcs, étude 3)



Ces valeurs constituent un bon taux de récupération, comme l’a montré la comparaison avec d’autres études scientifiques réalisée dans l’étude 3 et estimée à 30 à 40% par le Comité scientifique de l’AFSCA (Comité scientifique de l’Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2006).

La méthode de l’échantillonnage de la peau du cou a été choisie pour les carcasses de volailles. Les études 1 et 2 ont montré qu’il s’agissait d’une technique efficace, tant pour la recherche de *Salmonella*, que pour la recherche de *Campylobacter*. Les échantillons étaient ensuite acheminés rapidement et sous réfrigération dans les laboratoires. L’efficacité, l’efficience, la praticabilité, les méthodes de prélèvement, l’expertise des préleveurs, et l’impact commercial sur le produit ont été envisagés. L’étude 3 propose également des adaptations de la méthode de prélèvement des carcasses de bovins et de porcs conformément à la réglementation européenne.

Le troisième élément est la méthode d'analyse. Trois laboratoires accrédités selon la norme ISO 17.025 (Organisation internationale de normalisation, 2005a) et agréés par l'AFSCA ont utilisé des méthodes semblables et normalisées, validées par l'AFNOR ou dérivées d'une méthode normalisée. Cela donne des garanties de qualité des pratiques de laboratoire et de l'application uniforme des méthodes.

Le quatrième élément est le mode d'exploitation des résultats. En fonction des objectifs retenus, l'ensemble des données à enregistrer a été défini (numéro d'identification de l'échantillon selon le préleveur et selon le laboratoire, type d'échantillon et sa catégorie, identification du numéro de lot du produit ou du numéro d'identification de l'animal, semaine de prélèvement, identification de l'établissement et de sa localisation, résultats des dénombrements, ou des recherches, espèces et sérotypes). Les laboratoires ont encodé les résultats des analyses dans un tableau prédéfini et ont également transmis la fiche de prélèvement et le rapport d'essai. Une analyse critique de ces résultats a donné lieu à la correction de certaines données mal encodées. Elles ont ensuite été encodées dans une base de données communes sous un format uniformisé. Avant tout traitement, les résultats des dénombrements ont été transformés en valeur logarithmique (en base 10). Il a été tenu compte de tous les résultats des dénombrements (études 3 et 4) lors des traitements, y compris les résultats inférieurs à la limite de détection, en utilisant la valeur correspondant à la moitié de la limite de détection. La médiane et la moyenne géométrique ont permis de comparer les résultats d'année en année et par rapport à d'autres études scientifiques. Une analyse critique, rigoureuse, tenant compte de l'ensemble des résultats a été suivie.

Le cinquième élément est l'interprétation des résultats. Le plan d'échantillonnage couvrant les années 2000 à 2003 a permis de suivre l'évolution des résultats et de réaliser différents types de comparaisons au niveau national (y compris par rapport à d'autres études scientifiques belges). Pour les résultats des recherches (études 1 et 2) la prévalence - correspondant au nombre d'échantillons dans lesquels une présence a été détectée par rapport au nombre d'échantillons analysés - a été utilisée, comme dans la majorité des études scientifiques. Les percentiles ont été utilisés pour l'interprétation des résultats de dénombrements (études 3 et 4), et en particulier les percentiles 50 (ou la médiane), 75, et 95. Ils correspondent à la valeur en dessous de laquelle se situent respectivement 50%, 75% et 95% de l'ensemble des résultats. Ils permettent de situer l'ensemble des établissements, en

considérant les percentiles 75 et 95 comme étant deux paliers limitant trois niveaux de satisfaction. Ces valeurs permettent également de déterminer la relation existant entre les résultats des germes indicateurs et des agents pathogènes. La comparaison des études 3 et 4 par rapport aux données d'autres études scientifiques réalisées dans d'autres pays était cependant délicate, le plan d'échantillonnage, la méthode de prélèvement et d'analyse et l'exploitation des résultats étaient souvent différentes. L'accent a donc été mis sur le suivi de l'évolution des résultats, et l'évaluation des établissements par rapport à trois paliers de satisfaction permettant différents types de comparaisons.

Dans son avis 39/2006, le Comité scientifique de l'AFSCA (Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2006) – traduit en note à l'attention des exploitants par l'AFSCA (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2006) - mentionne que la méthode belge d'écouvillonnage peut être utilisée, tout comme la méthode destructive, dans le cadre des prélèvements réalisés pour vérifier l'hygiène des procédés. Il insiste sur la standardisation de la technique d'écouvillonnage, dans le but de diminuer la variabilité, de permettre les comparaisons, et recommande l'utilisation de grands disques d'ouate pour le dénombrement des indicateurs et l'utilisation d'éponges abrasives pour la recherche de *Salmonella*.

On peut donc conclure que les plans de surveillance décrits dans ces quatre études sont représentatifs de la production carnée belge et de qualité. Ils permettent de nombreux types d'interprétation des résultats. Une adaptation est nécessaire dans le contexte réglementaire européen : pour la recherche de *Salmonella*, la méthode d'écouvillonnage doit désormais être réalisée au moyen d'éponges abrasives, et pour le dénombrement des indicateurs, les cotons cosmétiques doivent être de grande taille.

Ces plans de surveillance servent de base à la programmation des contrôles microbiologiques réalisée par l'AFSCA selon une méthodologie faisant appel à l'évaluation des risques, des outils statistiques et l'état de connaissances scientifiques (Maudoux *et al.*, 2006). Ce programme de contrôle est traduit en un plan de contrôle réparti entre les différentes unités provinciales de contrôles qui réalisent les prélèvements. Les analyses sont réalisées par des laboratoires accrédités selon l'ISO 17.025 (Organisation internationale de normalisation, 2005a) et agréés par l'AFSCA selon des méthodes imposées (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2008).

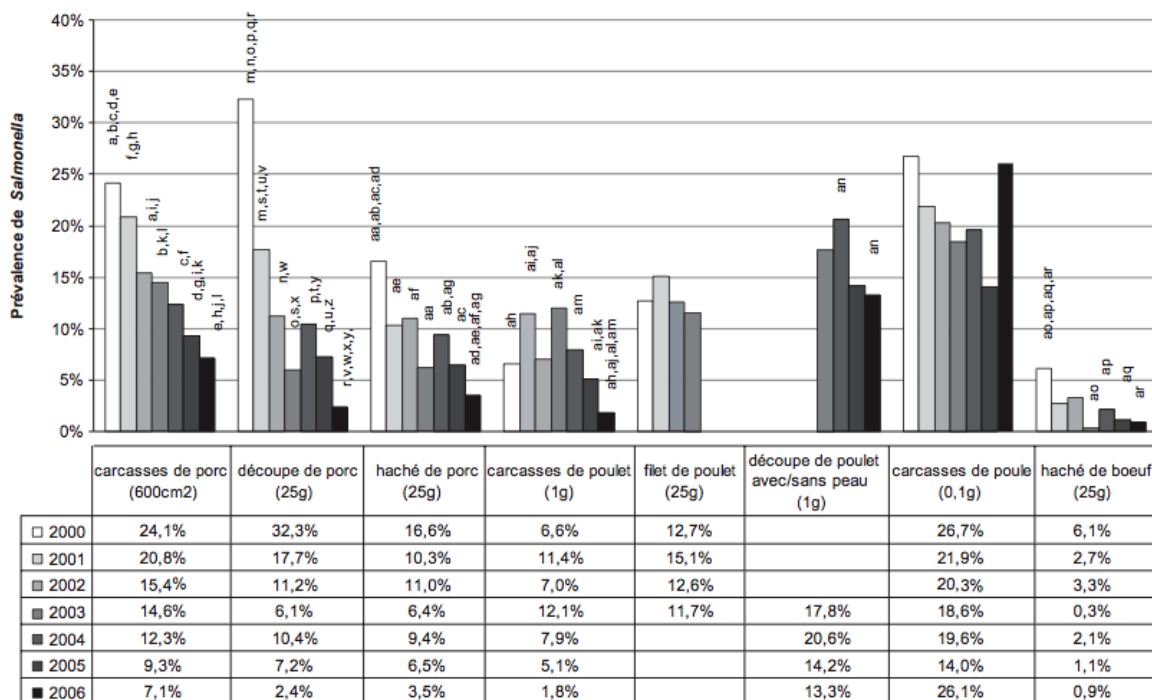
En ce qui concerne les cinq éléments cités ci-dessus comme devant être pris en compte dans la mise en place d'un plan de surveillance, la représentativité et la méthode d'échantillonnage sont conformes aux plans d'échantillonnages précités. Les méthodes de dénombrement des germes aérobies totaux, des *E. coli*, des entérobactéries et les méthodes de recherche de *Salmonella* et *Campylobacter* imposées par l'AFSCA dans le cadre de son plan de contrôle sont les méthodes ISO normalisées et internationalement reconnues; dans ce cadre, les méthodes de dénombrement peuvent être réalisées en simple boîte si deux dilutions successives sont ensemencées, conformément à l'ISO 7.218 (Organisation internationale de normalisation, 2007). Des logiciels informatiques spécifiques ont été développés par l'AFSCA en vue de l'exploitation et de l'interprétation optimales des résultats des inspections et des analyses, aux différentes étapes (programmation des contrôles, leur planification, leur préparation, leur réalisation au moyen de check-lists, l'encodage des résultats des contrôles, le prélèvement des échantillons, la notification aux laboratoires destinataires, l'encodage des résultats d'analyses, et le rapportage des contrôles et échantillonnages). Des modules d'exportations des données disponibles doivent encore être développés pour permettre la réalisation d'analyses de tendance telles que celles réalisées lors de cette étude. Celle-ci pourrait servir de modèle, de guide pour l'exploitation et l'interprétation des résultats.

Cette stratégie cadre parfaitement avec la mise en place de programmes de contrôles intégrés pluriannuels imposés par le règlement (CE) n°882/2004 (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2004d).

2. Quelle est la contamination des filières carnées belges par des microorganismes pathogènes zoonotiques ?

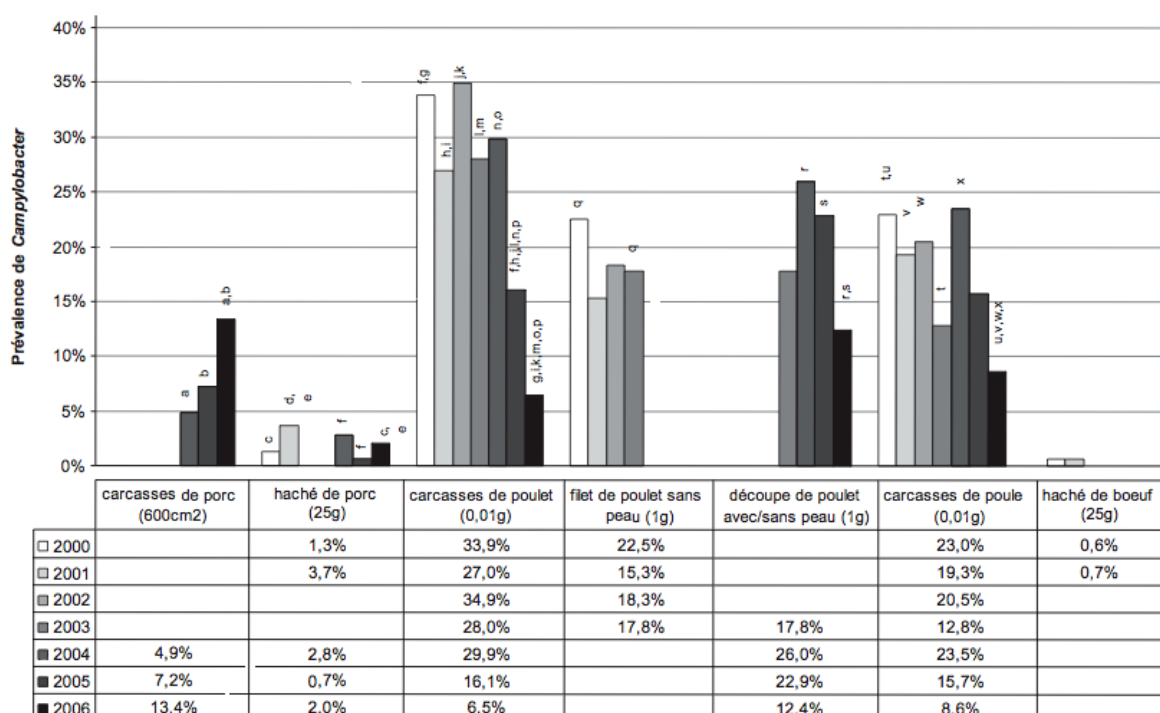
Le plan de surveillance décrit dans l'étude 1 a permis de déterminer la prévalence de *Salmonella*, ainsi que son évolution de 2000 à 2006 pour les carcasses ou viandes de bovins, de porcs et de volaille (figure 5.4.).

Figure 5.4. : Prévalence de *Salmonella* dans les échantillons de porc, volaille et bœuf entre 2000 et 2006. Pour le même type d'échantillon, les valeurs ayant les mêmes lettres sont significativement différentes (Test de Fisher, $P < 0,05$).



Simultanément, le taux de contamination de la viande de volaille et de porc par *Campylobacter* a été déterminé entre 2000 et 2006 (figure 5.5.).

Figure 5.5. : Prévalence de *Campylobacter* dans les échantillons de porc, volaille et bœuf entre 2000 et 2006



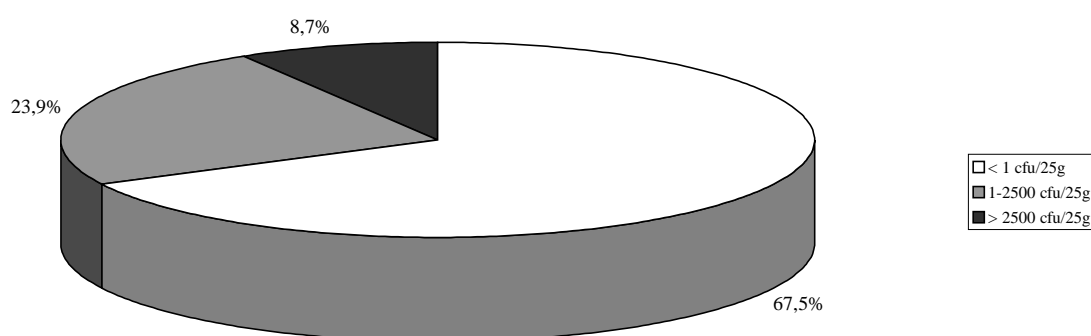
Ces études ont montré une diminution significative de la contamination par *Salmonella* des trois types d'échantillons de porc et des carcasses de poulet et une diminution de la prévalence de *Campylobacter* des carcasses, des filets et découpes de poulets et des carcasses de poules. Elles confirment également la forte contamination par *Salmonella* et *Campylobacter* de la filière de production de viande de volaille et la plus faible contamination par *Campylobacter* et, dans une moindre mesure, par *Salmonella*, des viandes de bœuf et porc, ce qui est également constaté par plusieurs études internationales. S'il ne s'agit pas du principal mode de contamination de l'homme – les œufs étant majoritairement responsables des toxi-infections alimentaires dues à *Salmonella* - la consommation de viande de volaille, de porc et de bœuf hachée crue (ou insuffisamment cuite), et les contaminations croisées d'autres produits consommés crus constituent un risque (Altekruse *et al.*, 1993; Tirado et Schmidt, 2001; Ghafir *et al.*, 2005).

3. Est-il est important de disposer de données de contamination des filières carnées par des microorganismes pathogènes zoonotiques ?

L'étude introductive réalisée de 1997 à 1999 a testé plusieurs dilutions des mêmes échantillons, ce qui a permis d'estimer de façon semi-quantitative le niveau de contamination des échantillons de porc et de volaille (études 1 et 2). Le raisonnement utilisé dans ces 2 études a été appliqué aux produits préparés à base de viande de volaille hachée. En 2002, la contamination par *Campylobacter* de ces échantillons dans le cadre de l'étude 2 était de 49,4% dans 25 g (sur un total de 79 échantillons). Une autre étude réalisée en 2002 par l'AFSCA (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2003c) a montré une prévalence de 26,2% dans 25 g (sur un total de 210 échantillons) ; la mise en évidence d'un échantillon contaminé entraînait un prélèvement secondaire, dont le résultat était une prévalence de 26,7% dans 0,01 g (sur un total de 15 échantillons). Au total, 32,5% des échantillons étaient contaminés dans 25 g et, parmi ceux-ci, 26,7% des échantillons l'étaient dans 0,01 g. On peut donc estimer que (figure 5.6.) :

- la prévalence dans 25 g (soit 32,5% des échantillons) représente la proportion d'échantillons contenant plus d'1 ufc de *Campylobacter* / 25 g,
- la prévalence dans 0,01 g parmi les échantillons positifs dans 25 g (26,7% de 32,5%, soit 8,7% des échantillons) représente les échantillons contenant plus de 2.500 ufc de *Campylobacter* /25 g,
- la prévalence des échantillons négatifs dans 25 g représente les échantillons contenant moins d'1 ufc de *Campylobacter* /25 g (67,5%).

Figure 5.6. : Estimation semi-quantitative de la contamination par *Campylobacter* d'échantillons des préparations à base de viande hachée de volaille

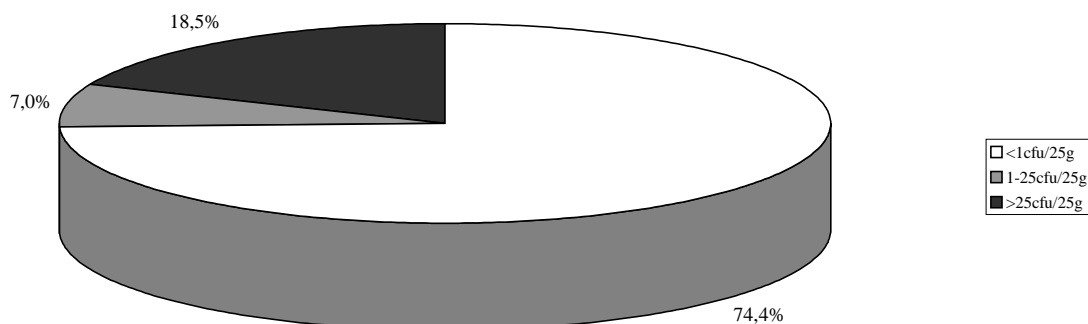


Les préparations de viande à base de viande hachée de volaille sont donc fréquemment contaminées par *Campylobacter*, et parfois à des niveaux élevés. Ces produits sont susceptibles d'être consommés peu, voire pas du tout, cuits et d'être l'objet de manipulations incorrectes. Il était donc nécessaire de définir des risques microbiologiques basés sur une analyse des risques pour ce pathogène et dans ce type d'aliment. Sur base de l'estimation précitée et à la demande du Service public fédéral santé publique, sécurité de la chaîne alimentaire et environnement, le Conseil supérieur de la santé a réalisé une analyse du risque présenté en Belgique par les *Campylobacter* spp. dans les préparations de viande à base de viande hachée de volaille. Cet avis conclut qu'il est important de diminuer le nombre de toxi-infections alimentaires chez l'homme dues à *Campylobacter*, mais qu'actuellement, il n'est pas réaliste d'envisager la suppression de tout risque de campylobactériose. D'une part, l'élimination des préparations de viande à base de viande hachée de volaille contenant un grand nombre de *Campylobacter* (> 1000/g), et la limitation des niveaux de contamination moins importants constituerait une contribution positive en termes de santé publique et de diminution du risque d'infection. D'autre part, ce type de produit ne devrait pas être consommées cru ou insuffisamment cuit, ce qui doit être communiqué aux consommateurs.

Sur base de ces mêmes études, une analyse quantitative du risque plus complète a également été réalisée et a conclu que le fait de manger ce produit cru peut résulter en une augmentation de l'exposition par *Campylobacter* 10^{10} fois plus importante que si le produit est cuit (Uyttendaele *et al.*, 2006). Elle suggère une approche d'évaluation du risque évolutive pour la détermination de critères microbiologiques, de telle sorte que les critères correspondent à un niveau maximum acceptable techniquement et financièrement. Une telle approche existe au niveau européen, dans le cadre du règlement (CE) n°2160/2003 (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003b) ; une étude coordonnée est réalisée dans chaque état-membre au sujet, de la contamination des volailles ou des porcs par des agents zoonotiques. Cette étude est préalable à la détermination d'objectifs communautaires qui doivent être atteints dans un délai fixé. Une autre conclusion de ces études, est le besoin de plus de données quantitatives, indispensables à une évaluation quantitative du risque.

De façon similaire, l'estimation semi-quantitative de la contamination par *Salmonella* de l'étude 1 et les résultats du plan de surveillance en 2004 (Working group on foodborne infections and intoxications, 2006) ont servi de base à la détermination de critères provisoires dans les préparations de viande à base de viande hachée de volaille réalisée par le Conseil supérieur de la santé (Conseil supérieur d'hygiène, 2007). La contamination était de 21% dans 25 g en 2002, de 29,3% dans 25 g en 2003, et de 18,5% dans 1 g en 2004 (figure 5.7.).

Figure 5.7. : Estimation semi-quantitative de la contamination par *Salmonella* d'échantillons des préparations à base de viande hachée de volaille



Cet avis conclut qu'une limitation du nombre de *Salmonella* à un taux inférieur à 1/g aboutirait à une réduction significative du risque de salmonellose. Cependant, même à des niveaux de contamination très faibles, une proportion limitée de la population présente toujours un risque élevé de contamination, en raison d'un défaut de réfrigération ou d'une cuisson insuffisante. Cet avis souligne donc également l'importance des pratiques d'hygiène et de consommation pour limiter les risques de salmonellose.

Dans les préparations de viande de volaille destinées à être consommées cuites, le règlement (CE) n°2073/2005 n'impose de critères microbiologiques de sécurité que pour *Salmonella*, tout en autorisant les états-membres à des assouplissements. En Belgique, une telle dérogation fait l'objet de l'arrêté royal du 24 mai 2006, permettant un résultat insatisfaisant sur cinq en cas de recherche de *Salmonella* dans 10 g. Cet assouplissement concerne les viandes hachées et préparations de viandes à base de viande de volailles destinées à être consommées cuites et destinées au marché national (Service public fédéral santé publique, 2006). Dans le cadre de son plan de contrôle, l'AFSCA réalise des prélèvements de ce produit pour réaliser une recherche de *Salmonella* (critère de sécurité dont le dépassement doit mener à un retrait ou un

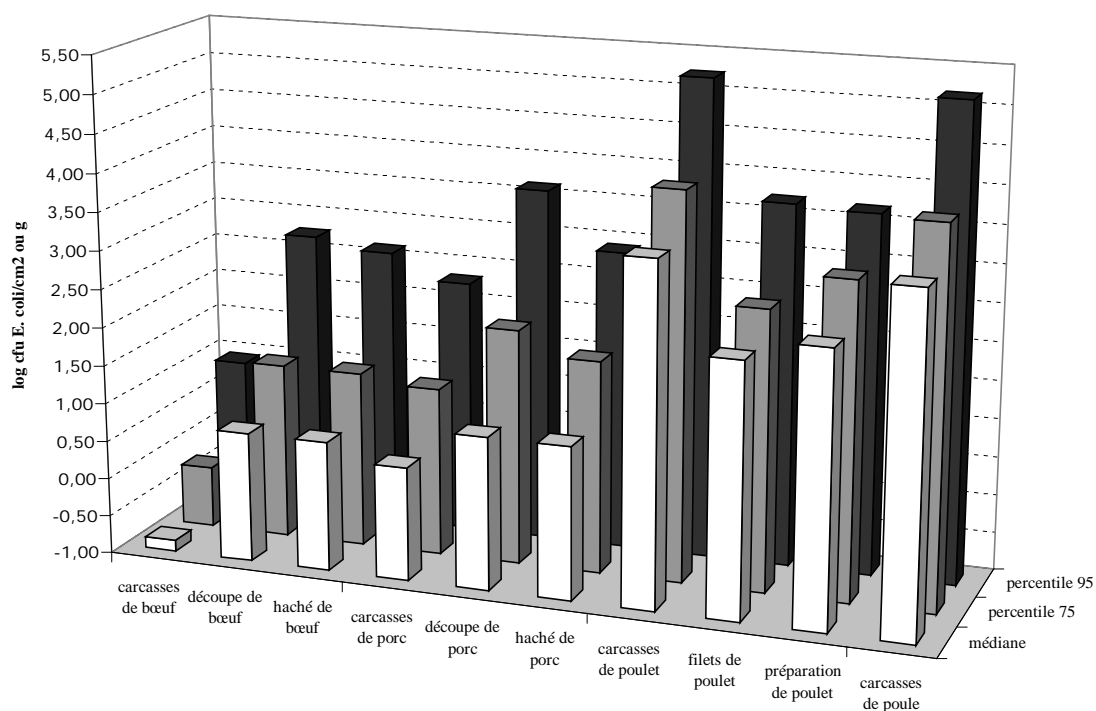
rappel du produit) et un dénombrement de *Campylobacter* (critère indicatif dont le dépassement mène à une information de l'opérateur).

En conclusion, il est très important de disposer de données de contamination par les microorganismes pathogènes des aliments. Elles permettent, d'une part, de suivre l'évolution nationale et internationale, et d'autre part la détermination de critères microbiologiques basés sur une évaluation quantitative des risques, tant aux niveaux européen que national.

4. Quelle est la contamination des filières carnées belges par des microorganismes indicateurs ?

L'étude 4 a permis de déterminer la moyenne, la médiane et les percentiles d'*E. coli*, des entérobactéries, des germes aérobies totaux des carcasses et viandes de bovins, de porcs et de volaille (figure 5.8.).

Figure 5.8. : Résultats des dénombrements d'*E. coli* dans les échantillons de porc, volaille et bœuf entre 2000 et 2003



Comme le montrent l'étude 4 et les réglementations belge, européenne et nord-américaine, les microorganismes indicateurs sont principalement utilisés comme critères d'hygiène des procédés pour les carcasses de bœuf et de porc, ainsi que la viande hachée, la viande séparée mécaniquement et les préparations de viande (United States Department of Agriculture, 1996; Ministère des affaires sociales de la santé publique et de l'environnement, 2002; Commission européenne, 2005b).

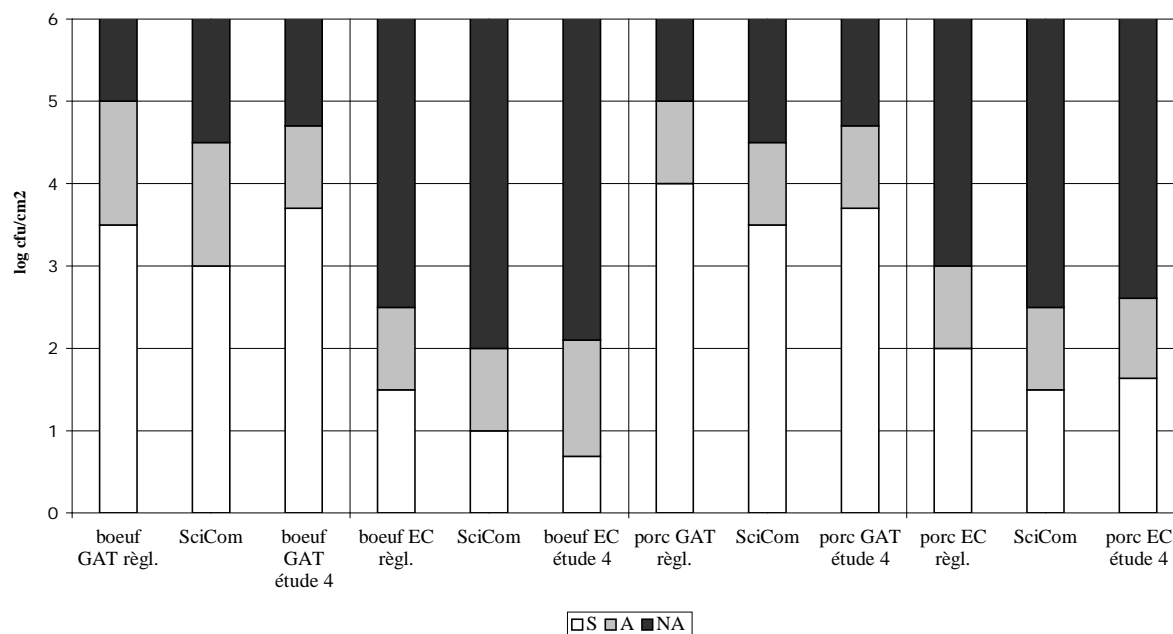
L'étude 4 montre une évolution favorable et significative des résultats de dénombrement des *E. coli* dans la viande de découpe et la viande hachée de porc et les carcasses de poulets, ainsi que des germes aérobies totaux sur les carcasses de bœuf et de porc. La diminution des percentiles 50, 75 ou 95 d'*E. coli* ou de germes aérobies totaux dans les échantillons de porc est parallèle à la diminution de la prévalence de *Salmonella* observée l'étude 1. Ces diminutions peuvent être probablement être attribuées à une amélioration de l'hygiène des procédés.

Globalement, les résultats des dénombrements d'*E. coli*, des entérobactéries et des germes aérobies totaux étaient les plus élevés dans les échantillons de volaille, et ensuite dans les échantillons de porc et de bœuf. Cette constatation de l'étude 4 est en conformité avec d'autres publications scientifiques.

Les percentiles 75 et 95 des germes indicateurs de ces plans de surveillance ont été considérés comme une base pour déterminer les limites m (limite de satisfaction) et M (limite d'acceptabilité). Cette stratégie a été utilisée en 2002, dans le cadre de l'adaptation de l'arrêté ministériel du 4 juillet 1996 conformément à la décision 2001/471/CE, pour déterminer des critères microbiologiques pour *E. coli* et les germes aérobies totaux sur les carcasses de bovins et porcins (Commission européenne, 2001; Ministère des affaires sociales de la santé publique et de l'environnement, 2002). Cette méthode de détermination des critères permet de tenir compte de la situation nationale réelle. Les résultats les plus élevés des dénombrements d'indicateurs (les 5% supérieurs) sont considérés comme étant inacceptables. Les établissements obtenant ces résultats doivent mettre en place des mesures correctrices pour y remédier. Ces limites sont à réévaluer régulièrement, dans l'optique d'une amélioration continue de l'hygiène des procédés.

Actuellement, la réglementation européenne fixe les limites *m* et *M* dans le cadre des critères d'hygiène des procédés (Commission européenne, 2005b) pour la méthode d'échantillonnage destructive et privilégie le dénombrement des entérobactéries par rapport au dénombrement d'*E. coli*. La différence entre les percentiles 75 et 95 de l'étude 4 et ces critères européens sont de maximum 12%. L'AFSCA a demandé l'avis au Comité scientifique quant aux critères à considérer dans ce cadre, lorsque la méthode non-destructive est utilisée (Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2006). Sur base des études 3 et 4 et estimant – au vu des études scientifiques publiées - à 30 à 40% la diminution du nombre de microorganismes par rapport à la méthode d'échantillonnage destructive, le Comité scientifique a considéré que les critères correspondant à la méthode d'écouvillonnage devaient être de 0,5 log inférieurs aux critères correspondant à la méthode destructive. La figure 5.9. compare les percentiles 75 et 95 de l'étude 4 (selon la méthode d'écouvillonnage), avec les critères de l'avis du Comité scientifique précité (selon la méthode d'écouvillonnage) et les critères du règlement européen (selon la méthode destructive). Ces critères constituent les limites de 3 catégories de résultats : acceptables (A), satisfaisants (S), et insatisfaisants ou inacceptables (NA).

Figure 5.9. : Résultats des dénombrements des germes aérobies totaux (GAT) et des entérobactéries (EC) sur les carcasses de bœuf (bœuf), et les carcasses de porc (porc) (étude 4, méthode non-destructive) comparés aux critères du règlement (CE) n°2073/2005 (méthode destructive) et des critères selon l'avis du Comité scientifique de l'AFSCA (méthode non-destructive).



On peut donc conclure que la situation belge en matière de microorganismes indicateurs est comparable à plusieurs études publiées, et que la méthode précitée de détermination de critères d'hygiène des procédés est à privilégier, pour l'ensemble des échantillons étudiés.

5. Quelle est la pertinence des indicateurs de contamination fécale pour surveiller et maîtriser la contamination des filières belges de production de produits carnés par *Salmonella* et *Campylobacter*

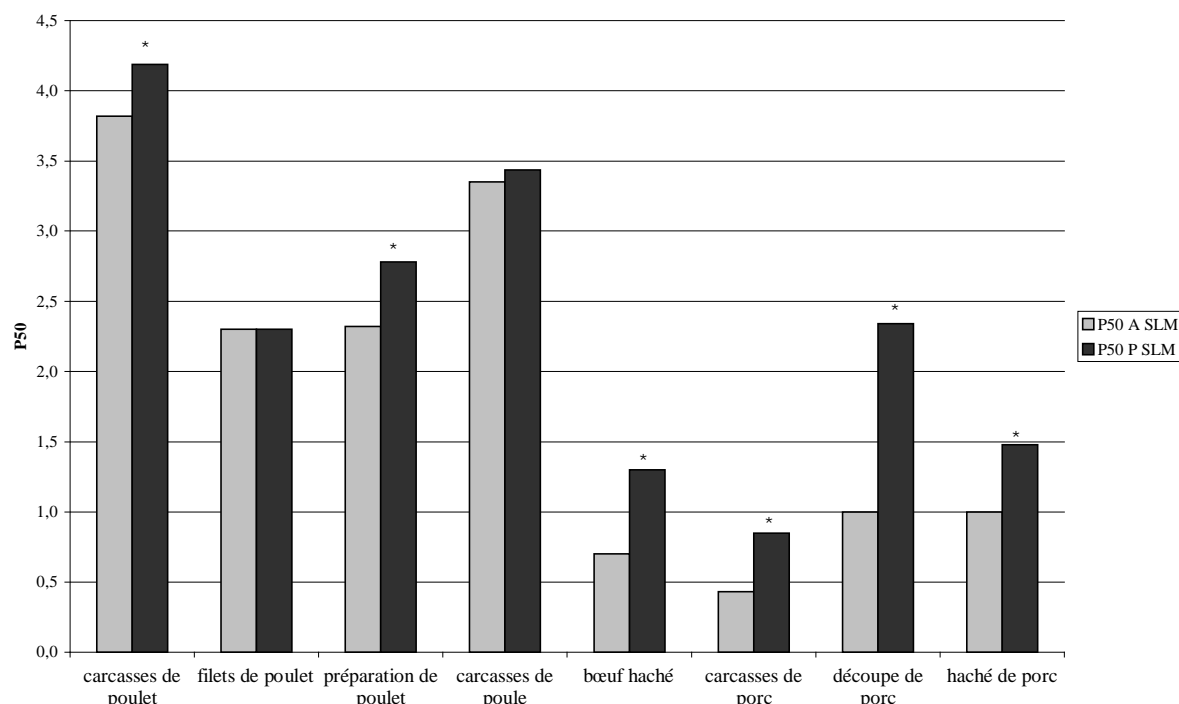
Les études 1, 2 et 4 ont déterminé la contamination des viandes de bœuf, de porc et de volaille par *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli*, les germes aérobies totaux et les entérobactéries. Il était important de déterminer dans quelle mesure ces trois derniers microorganismes pouvaient constituer un index donnant une indication sur la contamination par *Salmonella* ou *Campylobacter*.

Deux types de comparaisons ont été réalisées. D'une part, une comparaison entre les médianes des dénombrements d'*E. coli*, d'entérobactéries et de germes aérobies totaux des

échantillons dans lesquels la présence de *Salmonella* ou de *Campylobacter* était détectée. D'autre part, une comparaison entre les prévalences de *Salmonella* ou de *Campylobacter* des échantillons inférieurs et supérieurs au percentile 75 des dénombrements d'*E. coli*, d'entérobactéries et de germes aérobies totaux.

Dans les études 3 et 4, la médiane d'*E. coli*, et dans une moindre mesure des germes aérobies totaux, était plus élevée dans les échantillons où *Salmonella* (figure 5.10.) ou *Campylobacter* était détecté. L'étude 4 montre également une diminution de la prévalence de *Salmonella* ou *Campylobacter* lors de l'élimination des échantillons (de bœuf, de porc ou de volaille) dont le nombre d'*E. coli* est supérieur au percentile 75. Ce n'était pas le cas pour les résultats des germes aérobies totaux, ni des entérobactéries.

Figure 5.10. : Médiane des dénombrements d'*E. coli* dans les échantillons où une absence (P50 A SLM) ou une présence (P50 P SLM) de *Salmonella* a été détectée (* : différence significative, $P < 0,05$)



Il est donc pertinent de dénombrer *E. coli* en tant qu'indicateur de contamination fécale permettant de surveiller et maîtriser la contamination des filières de production de viande par *Salmonella* et *Campylobacter*, même s'il ne s'agit pas d'un index idéal ; sa détection au-dessus d'un certain seuil ne signifie en effet pas la présence systématique de *Salmonella* ou de *Campylobacter* et si son origine est toujours intestinale, sa présence ne donne pas d'indication sur l'origine exacte de la contamination.

En conclusion, le dénombrement d'*E. coli* est très utile pour la détermination de l'hygiène des procédés de production de viande en tant qu'indicateur de contamination fécale et en tant qu'index d'agents zoonotiques d'origine intestinale tels que *Salmonella* et *Campylobacter*. Le dénombrement concomitant des germes aérobies totaux donne des indications sur l'hygiène globale de l'établissement. Les entérobactéries étant également présents dans l'environnement, leur dénombrement donne moins d'indications sur l'origine de la contamination que les *E. coli*.

Conclusions

6 CONCLUSIONS

L'objectif principal de ce travail était de déterminer la pertinence des indicateurs de contamination fécale pour surveiller et maîtriser la contamination des filières belges de production de produits carnés par *Salmonella* et *Campylobacter*, dans le cadre de la mise en place des plans de surveillance des microorganismes pathogènes et indicateurs.

Il a d'abord été montré que les plans de surveillance décrits dans ces quatre études sont représentatifs de la production carnée belge et sont de qualité. Ils permettent de nombreux types d'interprétation des résultats. Une telle méthode de détermination d'un plan de surveillance cadre parfaitement avec la mise en place de programmes de contrôles intégrés pluriannuels imposés par le règlement (CE) n°882/2004 (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2004d).

Dans un deuxième temps, ces études ont confirmé la forte contamination par *Salmonella* et *Campylobacter* des carcasses et viandes de viande de volaille et la faible contamination par *Campylobacter* et, dans une moindre mesure, par *Salmonella*, des échantillons de bovins et de porcs. Cependant, entre 2000 et 2003, une diminution de la contamination par *Salmonella* de la viande de porc et une diminution de la prévalence de *Campylobacter* d'échantillons de volaille ont également été observés. Entre 2004 et 2006, la contamination des carcasses de poulet par *Campylobacter* a également diminué fortement.

Dans un troisième temps, ces études ont souligné l'importance de disposer de données de contamination par les microorganismes pathogènes des aliments. Elles permettent en effet de suivre l'évolution nationale et internationale, et de disposer d'une approche basée sur une évaluation quantitative des risques pour la détermination de critères microbiologiques.

Dans un quatrième temps, il a été conclu que la situation belge en matière de microorganismes indicateurs est comparable à plusieurs études publiées, et que la méthode de détermination de critères d'hygiène des procédés en se basant sur les résultats des plans de surveillance est à privilégier, pour l'ensemble des échantillons étudiés.

Enfin, il peut être conclu que le dénombrement d'*E. coli* est très utile pour la détermination de l'hygiène des procédés de production de viande en tant qu'indicateur de contamination fécale et en tant qu'index d'agents zoonotiques d'origine intestinale tels que *Salmonella* et *Campylobacter*. L'ensemble des résultats de ces études et les stratégies appliquées sont également très utiles dans le cadre de négociations au niveau européen pour la détermination de critères microbiologiques.

Perspectives

7 PERSPECTIVES

Des plans de surveillance adaptés aux exigences réglementaires européennes doivent continuer à être réalisés, pour permettre de suivre l'évolution des agents pathogènes en Belgique, en comparaison par exemple, avec la diminution du nombre d'infections humaines dues à *Salmonella*, et, par contre, l'augmentation du nombre de cas humains de campylobactériose constatée ces dernières années.

L'évaluation semi-quantitative des risques constituait une première étape, mais l'évaluation quantitative du risque nécessite des résultats de dénombrement des microorganismes tels que *Salmonella* et *Campylobacter*. Pour cela, le développement de méthodes fiables, adaptées et reconnues, comme c'est déjà le cas pour *Campylobacter*, est indispensable.

Le dénombrement d'*E. coli* devrait être privilégié et défendu à l'échelle européenne, dans le cadre de la vérification du respect de l'hygiène des procédés, simultanément au dénombrement des germes aérobies totaux. D'autres indicateurs, tels que les bifidobactéries pourraient cependant constituer des perspectives à long terme.

Une réévaluation des critères d'hygiène des procédés doit être réalisée à intervalles réguliers, sur base des résultats des plans de surveillance, et en tenant compte des indicateurs les plus pertinents pour maîtriser la contamination par des microorganismes pathogènes émergents, ou d'autres agents pathogènes.

La méthodologie de détermination de critères de sécurité des aliments en se basant sur une évaluation du risque devrait être développée, standardisée et appliquée aux niveaux européen et belge.

Références bibliographiques

8 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAK G.K., LONG S.M., O'BRIEN S.J. Trends in indigenous foodborne disease and deaths, England and Wales: 1992 to 2000. *Gut*, 2002, **51**, 832-841.
- ADAK G.K., MEAKINS S.M., YIP H., LOPMAN B.A., O'BRIEN S.J. Disease risks from foods, England and Wales, 1996-2000. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, **11**, 365-372.
- AFNOR. NF-V04-504: Viandes et produits à base de viande - Dénombrement des *Pseudomonas*. Association française de Normalisation: La Plaine Saint-Denis, 1998, 15 p.
- AFNOR. NF-V08-054: Microbiologie des aliments - Dénombrement des entérobactéries par comptage des colonies obtenues à 30 degrés Celcius - Méthode de routine. Association française de Normalisation: La Plaine Saint-Denis, 1999a, 8 p.
- AFNOR. NF-V-08-051 - Microbiologie des aliments - Dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenues à 30 degrés Celcius - Méthode de routine. Association française de Normalisation: La Plaine Saint-Denis, France, 1999b, 8 p.
- AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE. Arrêté royal du 14 novembre 2003 relatif à l'autocontrôle, à la notification obligatoire et à la traçabilité dans la chaîne alimentaire. *Moniteur belge*, 2003a, **12/12/2003**, Ed. 2, 59072-59086.
- AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE. Liste consolidée des établissements; Belgique, 21/01/2003. Brussels, 2003b.
- AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE. Rapport d'activités 2002. Bruxelles, 2003c, 165 p.
- AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE. Arrêté ministériel du 22 janvier 2004 relatif aux modalités de notification obligatoire dans la chaîne alimentaire. *Moniteur belge*, 2004, **13/2/2004**, Ed. 3, 59072-59086.
- AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE. Note aux exploitants des abattoirs d'ongulés domestiques et aux fédérations professionnelles des abattoirs relative à l'application du règlement (CE) n°2073/2005: nouvelles dispositions. Bruxelles, 2006, 6 p.
- AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE. Note aux laboratoires agréés relative à la liste des méthodes reconnues en microbiologie - version 4 / dénombrement en simple boîte. Bruxelles, 2008, 15 p.
- ALLEN V.M., WEAVER H., RIDLEY A.M., HARRIS J.A., SHARMA M., EMERY J., SPARKS N., LEWIS M., EDGE S. Sources and spread of thermophilic *Campylobacter* spp. during partial depopulation of broiler chicken flocks. *J. Food Prot.*, 2008, **71**, 264-270.
- ALLOS B.M. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clin. Infect. Dis.*, 2001, **32**, 1201-1206.
- ALTEKRUSE S., KOEHLER J., HICKMAN-BRENNER F., TAUXE R.V., FERRIS K. A comparison of *Salmonella* enteritidis phage types from egg-associated outbreaks and implicated laying flocks. *Epidemiol. Infect.*, 1993, **110**, 17-22.
- ANTUNES P., REU C., SOUSA J.C., PEIXE L., PESTANA N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **82**, 97-103.
- ARSENAULT J., LETELLIER A., QUESSY S., NORMAND V., BOULIANNE M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. caecal colonization in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. *Prev. Vet. Med.*, 2007, **81**, 250-264.
- ARTHUR T.M., BOSILEVAC J.M., NOU X., SHACKELFORD S.D., WHEELER T.L., KENT M.P., JARONI D., PAULING B., ALLEN D.M., KOOHMARAIE M. *Escherichia coli* O157 prevalence and enumeration of aerobic bacteria, *Enterobacteriaceae*, and *Escherichia coli* O157 at various steps in commercial beef processing plants. *J. Food Prot.*, 2004, **67**, 658-665.
- BACON R.T., BELK K.E., SOFOS J.N., CLAYTON R.P., REAGAN J.O., SMITH G.C. Microbial populations on animal hides and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination. *J. Food Prot.*, 2000, **63**, 1080-1086.
- BARRIOS P.R., REIERSEN J., LOWMAN R., BISAILLON J.R., MICHEL P., FRIDRIKSDOTTIR V., GUNNARSSON E., STERN N., BERKE O., MCEWEN S., MARTIN W. Risk factors for *Campylobacter* spp. colonization in broiler flocks in Iceland. *Prev. Vet. Med.*, 2006, **74**, 264-278.
- BEERENS H. *Bifidobacteria* as indicators of faecal contamination in meat and meat products: detection, determination of origin and comparison with *Escherichia coli*. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, **40**, 203-207.
- BERNDTSON E., DANIELSSON-THAM M.L., ENGVALL A. *Campylobacter* incidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **32**, 35-47.
- BERRANG M.E., BUHR R.J., CASON J.A., DICKENS J.A. Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *J. Food Prot.*, 2001a, **64**, 2063-2066.
- BERRANG M.E., BUHR R.J., CASON J.A., DICKENS J.A. Microbiological consequences of skin removal prior to evisceration of broiler carcasses. *Poult. Sci.*, 2002, **81**, 134-138.
- BERRANG M.E., LADELY S.R., BUHR R.J. Presence and level of *Campylobacter*, coliforms, *Escherichia coli*, and total aerobic bacteria recovered from broiler parts with and without skin. *J. Food Prot.*, 2001b, **64**, 184-188.
- BLACK R.E., LEVINE M.M., CLEMENTS M.L., HUGHES T.P., BLASER M.J. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J. Infect. Dis.*, 1988, **157**, 472-479.

- BOES J., NESTERLING L., NIELSEN E.M., KRANKER S., ENØE C., WACHMANN H.C., BAGGESEN D.L. Prevalence and diversity of *Campylobacter jejuni* in pig herds on farms with and without cattle or poultry. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 722-727.
- BONARDI S., BRINDANI F., PIZZIN G., LUCIDI L., D'INCAU M., LIEBANA E., MORABITO S. Detection of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in pigs at slaughter in Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **85**, 101-110.
- BORCH E., NESBAKKEN T., CHRISTENSEN H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **30**, 9-25.
- BOTTELDOORN N., HEYNDRIKX M., RIJPELS N., GRIJSPEERDT K., HERMAN L. *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **95**, 891-903.
- BRENNER D.J. Family I. *Enterobacteriaceae*. In: Krieg N.R., Holt G.H. (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Volume 1). Williams and Wilkins: Baltimore, 1984, 408-420.
- BRIAND P. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande de création de documents de référence concernant des flores microbiennes utilisables en tant qu'indicateur d'hygiène des procédés. Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa): Paris, 2007, 9 p.
- BUTZLER J.P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2004, **10**, 868-876.
- BYRNE B., DUNNE G., LYG J., BOLTON D.J. Microbiological carcass sampling methods to achieve compliance with 2001/471/EC and new hygiene regulations. *Res. Microbiol.*, 2005, **156**, 104-106.
- CAPITA R., PRIETO M., ALONSO-CALLEJA C. Sampling methods for microbiological analysis of red meat and poultry carcasses. *J. Food Prot.*, 2004, **67**, 1303-1308.
- CASON J.A., BERRANG M.E., BUHR R.J., COX N.A. Effect of prechill fecal contamination on numbers of bacteria recovered from broiler chicken carcasses before and after immersion chilling. *J. Food Prot.*, 2004, **67**, 1829-1833.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food - selected sites, United States, 2003. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 2004, **53**, 338-343.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Multistate outbreak of *Salmonella* typhimurium infections associated with eating ground beef--United States, 2004. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 2006a, **55**, 180-182.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Preliminary FoodNet data on the incidence of foodborne illnesses with pathogens transmitted commonly through food - 10 states, United States, 2005. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 2006b, **55**, 392-395.
- CHAHED A. Prévalence et caractérisation de souches d'*Escherichia coli* O157 productrices de shigatoxines isolées de denrées alimentaires d'origine animale en Belgique et en Algérie, Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences vétérinaire, orientation médecine vétérinaire. Institution: Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire, Département des sciences des denrées alimentaires, Microbiologie des denrées alimentaires, Liège, 2007, 207 p.
- CHAHED A., GHAFIR Y., CHINA B., DIERICK K., DE ZUTTER L., PIÉRARD D., DAUBE G. Survey of the contamination of foodstuffs from animal origin by shiga toxin producing *Escherichia coli* serotype O157:H7 in Belgium from 1999 to 2003. *Euro Surveill.*, 2005, **10**, 33-36.
- CHURCHILL G.A., DOERGE R.W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 1994, **138**, 963-971.
- COGAN T.A., HUMPHREY T.J. The rise and fall of *Salmonella* Enteritidis in the UK. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **94 Suppl**, 114S-119S.
- COMITÉ SCIENTIFIQUE DE L'AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE. Avis 39-2006. Critères d'hygiène des procédés en ce qui concerne le nombre de colonies aérobies, les *Enterobacteriaceae* et *Salmonella* (dossier Sci Com 2006/11). Bruxelles, 2006, 8 p.
- COMMISSION EUROPÉENNE. Décision 2001/471/CE de la Commission du 8 juin 2001 établissant les règles applicables au contrôle régulier de l'hygiène générale effectué par les exploitants dans les établissements conformément à la directive 64/433/CEE relative aux conditions de production et de mise sur le marché de viandes fraîches et à la directive 71/118/CEE relative à des problèmes sanitaires en matière d'échanges de viandes fraîches de volaille. *J. Off. Commun. Eur.*, 2001, **L165**, 48-53.
- COMMISSION EUROPÉENNE. Décision 2005/636/CE de la Commission du 1er septembre 2005 concernant une participation financière de la Communauté à une étude de référence sur la prévalence de *Salmonella* spp. dans les troupeaux de poulets de chair *Gallus gallus* à réaliser dans les États membres. *J. Off. Commun. Eur.*, 2005a, **L228**, 14-18.
- COMMISSION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 2073/2005 de la Commission, du 15 novembre 2005, concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. *J. Off. Commun. Eur.*, 2005b, **L338**, 1-26.
- COMMISSION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 1003/2005 de la Commission du 30 juin 2005 portant application du règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne la fixation d'un objectif communautaire de réduction de la prévalence de certains sérotypes de salmonelles dans les cheptels reproducteurs de *Gallus gallus* et portant modification du règlement (CE) n° 2160/2003. *J. Off. Commun. Eur.*, 2005c, **L170**, 12-17.
- COMMISSION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 1091/2005 de la Commission du 12 juillet 2005 mettant en œuvre le règlement (CE) n° 2160/2003 en ce qui concerne les exigences communautaires relatives à l'utilisation de méthodes de contrôle spécifiques dans le cadre des programmes nationaux de contrôle des salmonelles. *J. Off. Commun. Eur.*, 2005d, **L182**, 3-4.

- COMMISSION EUROPÉENNE. Décision 2006/668/CE de la Commission du 29 septembre 2006 concernant une participation financière de la Communauté à une étude de référence sur la prévalence de *Salmonella* chez les porcs de boucherie à réaliser dans les États membres. *J. Off. Commun. Eur.*, 2006a, **L275**, 51-61.
- COMMISSION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 1168/2006 de la Commission du 31 juillet 2006 portant application du règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne la fixation d'un objectif communautaire de réduction de la prévalence de certains sérotypes de salmonelles chez les poules pondeuses *Gallus gallus* et portant modification du règlement (CE) n° 1003/2005. *J. Off. Commun. Eur.*, 2006b, **L211**, 4-8.
- COMMISSION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 1177/2006 de la Commission du 1er août 2006 mettant en œuvre le règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les exigences relatives à l'utilisation de méthodes de contrôle spécifiques dans le cadre des programmes nationaux de contrôle des salmonelles chez les volailles. *J. Off. Commun. Eur.*, 2006c, **L212**, 3-5.
- COMMISSION EUROPÉENNE. Décision 2007/516/CE du 19 juillet 2007 relative à une participation financière de la Communauté à une étude à réaliser dans les États membres portant sur la prévalence et la résistance antimicrobienne de *Campylobacter* spp. dans les troupeaux de poulets de chair ainsi que sur la prévalence de *Campylobacter* spp. et de *Salmonella* spp. dans les carcasses de poulets de chair. *J. Off. Commun. Eur.*, 2007, **L190**, 25-37.
- COMMUNITY REFERENCE LABORATORY ON THE EPIDEMIOLOGY OF ZOOSES. Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food and man in the European Union and Norway in 2002. Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin: 2004, 442 p.
- COMMUNITY REFERENCE LABORATORY ON THE EPIDEMIOLOGY OF ZOOSES. Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food and man in the European Union and Norway in 2003. Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin: 2005, 236 p.
- CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Directive 92/117/CEE du Conseil du 17 décembre 1992 concernant les mesures de protection contre certaines zoonoses et certains agents zoonotiques chez les animaux et dans les produits d'origine animale, en vue de prévenir les foyers d'infection et d'intoxication dus à des denrées alimentaires. *J. Off. Commun. Eur.*, 1993, **L62**, 38-48.
- CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Directive 94/65/CE du Conseil du 14 décembre 1994 établissant les exigences applicables à la production et à la mise sur le marché de viandes hachées et de préparations de viandes. *J. Off. Commun. Eur.*, 1994, **L368**, 10-31.
- CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Directive 2002/99/CE du Conseil, du 12 décembre 2002, fixant les règles de police sanitaire régissant la production, la transformation, la distribution et l'introduction des produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. *J. Off. Commun. Eur.*, 2002, **L18**, 11-20.
- CONSEIL SUPÉRIEUR D'HYGIÈNE. Contribution à l'évaluation du risque présenté en Belgique par les *Campylobacter* spp. dans les préparations de viande à base de viande hachée de volaille (CSH n°7947). Bruxelles, 2005, 38 p.
- CONSEIL SUPÉRIEUR D'HYGIÈNE. Normes provisoires pour quatre germes dans les préparations de viande à base de viande de volaille hachée (CSH n°7947). Troisième partie: analyse du risque *Salmonella* dans les produits préparés à base de viande de volaille hachée.: Bruxelles, 2007, 6 p.
- COOLS I., D'HAESE E., UYTENDAELE M., STORMS E., NELIS H.J., DEBEVERE J. Solid phase cytometry as a tool to detect viable but non-culturable cells of *Campylobacter jejuni*. *J. Microbiol. Methods*, 2005a, **63**, 107-114.
- COOLS I., UYTENDAELE M., CARO C., D'HAESE E., NELIS H.J., DEBEVERE J. Survival of *Campylobacter jejuni* strains of different origin in drinking water. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **94**, 886-892.
- COOLS I., UYTENDAELE M., CERPENTIER J., D'HAESE E., NELIS H.J., DEBEVERE J. Persistence of *Campylobacter jejuni* on surfaces in a processing environment and on cutting boards. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2005b, **40**, 418-423.
- CORNELIUS A.J., NICOL C., HUDSON J.A. *Campylobacter* spp. in New Zealand raw sheep liver and human campylobacteriosis cases. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005, **99**, 99-105.
- CORRY J.E., ATABAY H.I. Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *J. Appl. Microbiol.*, 2001, 96S-114S.
- CRUCHAGA S., ECHEITA A., ALADUENA A., GARCIA-PENA J., FRIAS N., USERA M.A. Antimicrobial resistance in salmonellae from humans, food and animals in Spain in 1998. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2001, **47**, 315-321.
- D'AOUST J.Y. *Salmonella*. In: Labbé R.G., García S. (Eds.), Guide to foodborne pathogens. John Wiley and Sons, Inc.: New York, 2001, 163-191.
- DANMAP GROUP. Resistance in zoonotic bacteria. In: Bager F., Emborg H.D. (Eds.), DANMAP 2000 – Consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. Danish Veterinary Laboratory, Danish Veterinary and Food Administration, Statens Serum Institute & Danish Medicines Agency: Copenhagen, 2001, 21-28.
- DAVIES R.H., DALZIEL R., GIBBENS J.C., WILESMITH J.W., RYAN J.M.B., EVANS S.J., BYRNE C., PAIBA G.A., PASCOE S.J.S., TEALE C.J. National survey for *Salmonella* in pigs, cattle and sheep at slaughter in Great Britain (1999-2000). *J. Appl. Microbiol.*, 2004, **9**, 750-760.
- DE BOER E., BEUMER R.R. Methodology for detection and typing of foodborne microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **50**, 119-130.
- DE BUCK J., VAN IMMERSEEL F., HAESBROUCK F., DUCATELLE R. Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. *J. Appl. Microbiol.*, 2004, **97**, 233-245.
- DE WIT M.A., KOOPMANS M.P., KORTBEEK L.M., VAN LEEUWEN N.J., BARTELDI A.I., VAN DUYNHOVEN Y.T. Gastroenteritis in sentinel general practices, The Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.*, 2001a, **7**, 82-91.

- DE WIT M.A., KOOPMANS M.P., KORTBEEK L.M., WANNET W.J., VINJE J., VAN LEUSDEN F., BARTELDI A.I., VAN DUYNHOVEN Y.T. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *Am. J. Epidemiol.*, 2001b, **154**, 666-674.
- DE ZUTTER L., ABRAMS R., VAN HOOFF J. Bacteriological survey of beef carcasses: correlation between swab and maceration method. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 1982, **33**, 33-56.
- DELCENSERIE V., CHINA B., GAVINI F., BEERENS H., DAUBE G. Proposition pour un nouveau standard indicateur de la contamination d'origine fécale dans les aliments: le genre *Bifidobacterium*. *Ann. Med. Vet.*, 2002, **146**, 279-293.
- DORSA W.J., CUTTER C.N., SIRAGUSA G.R. Evaluation of six sampling methods for recovery of bacteria from beef carcass surfaces. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1996, **22**, 39-41.
- DUCOFFRE G. Surveillance des maladies infectieuses par un réseau de laboratoires de microbiologie 2003 + tendances épidémiologiques 1983-2002. Scientific Institute of Public Health, Department of Epidemiology: Brussels, 2004.
- DUCOFFRE G., 2006. Surveillance des maladies infectieuses par un réseau de laboratoires de microbiologie 2005. Tendances épidémiologiques 1983-2004. Scientific Institute of Public Health, Brussels.
- DUFFY E.A., BELK K.E., SOFOS J.N., BELLINGER G.R., PAPE A., SMITH G.C. Extent of microbial contamination in United States pork retail products. *J. Food Prot.*, 2001, **64**, 172-178.
- DUFRENNE J., RITMEESTER W., DELFGOU-VAN ASCH E., VAN LEUSDEN F., DE JONGE R. Quantification of the contamination of chicken and chicken products in the Netherlands with *Salmonella* and *Campylobacter*. *J. Food Prot.*, 2001, **64**, 538-541.
- EBLEN D.R., LEVINE P., ROSE B.E., SAINI P., MAGEAU R., HILL W.E. Nationwide microbiological baseline data collected by sponge sampling during 1997 and 1998 for cattle, swine, turkeys, and geese. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 1848-1852.
- EKDAHL K., NORMANN B., ANDERSSON Y. Could flies explain the elusive epidemiology of campylobacteriosis? *BioMed Central Infectious Diseases*, 2005, **5**, 1471-2334.
- ELSON R., BURGESS F., LITTLE C.L., MITCHELL R.T. Microbiological examination of ready-to-eat cold sliced meats and pâté from catering and retail premises in the UK. *J. Appl. Microbiol.*, 2004, **96**, 499-509.
- ENDTZ H.P., Vliegenthart B.J.S., VANDAMME P., WEVERINK H.W., VAN DEN BRAAK N.P., VERBRUGH H.A., VAN BELKUM A. Genotypic diversity of *Campylobacter lari* isolated from mussels and oysters in The Netherlands. *Int. J. Food Microbiol.*, 1997, **34**, 79-88.
- ESLAVA C., VILLASECA J., HERNANDEZ U., CRAVIOTO A. *Escherichia coli*. In: Miliotis M.D., Bier J.W. (Ed.) International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker: New York, 2003, 123-135.
- EUROPEAN COMMISSION. Draft Commission Decision concerning a financial contribution from the Community towards a baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broilers and of *Campylobacter* and *Salmonella* in broiler carcasses to be carried out in the Member States. 2006.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Campylobacter* in animals and foodstuffs (Question N° EFSA-Q-2004-081). *The EFSA Journal*, 2005, **177**, 1-10.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005. *The EFSA Journal*, 2006, **94**, 1-236.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in holdings of laying flocks of *Gallus gallus*. *The EFSA Journal*, 2007a, **97**, 1-85.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus*, Part A. *The EFSA Journal*, 2007b, **98**, 1-85.
- EUZÉBY J.P. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. [en ligne] Adresse consultée le 15/08/2007.
- EWALD F. L'Etat de provision. Grasset: Paris, 1986, 608 p.
- FEGAN N., VANDERLINDE P., HIGGS G., DESMARCHÉLIER P. A study of the prevalence and enumeration of *Salmonella enterica* in cattle and on carcasses during processing. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 1147-1153.
- FENG P. *Escherichia coli*. In: Labbé R.G., García S. (Eds.), Guide to foodborne pathogens. John Wiley and Sons, Inc.: New York, 2001, 143-162.
- FERNÁNDEZ H., PISÓN V. Isolation of thermotolerant species of *Campylobacter* from commercial chicken livers. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **29**, 75-80.
- FERRIÈRES M. Histoire des peurs alimentaires du Moyen Age à l'aube du XXe siècle. Editions du Seuil: Paris, 2002, 473 p.
- FLINT J.A., VAN DUYNHOVEN Y.T., ANGULO F.J., DELONG S.M., BRAUN P., KIRK M., SCALLAN E., FITZGERALD M., ADAK G.K., SOCKETT P., ELLIS A., HALL G., GARGOURI N., WALKER H., BRAAM P. Estimating the burden of acute gastroenteritis, foodborne disease, and pathogens commonly transmitted by food: an international review. *Clin. Infect. Dis.*, 2005, **41**, 698-704.
- FOSSE J., LAROCHE M., ROSSERO A., FEDERIGHI M., SEEGER S., MAGRAS C. Recovery methods for detection and quantification of *Campylobacter* depend on meat matrices and bacteriological or PCR tools. *J. Food Prot.*, 2006, **69**, 2100-2106.
- FRICKER C.R., PARK R.W. A two-year study of the distribution of 'thermophilic' campylobacters in human, environmental and food samples from the Reading area with particular reference to toxin production and heat-stable serotype. *J. Appl. Bacteriol.*, 1989, **66**, 477-490.
- FROST J.A. Current epidemiological issues in human campylobacteriosis. *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.*, 2001, 85S-95S.
- GHAFFIR Y., CHINA B., DIERICK K., DE ZUTTER L., DAUBE G. A seven-year survey of *Campylobacter* contamination in meat at different production stages in Belgium. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **116**, 111-120.

- GHAFIR Y., CHINA B., DIERICK K., DE ZUTTER L., DAUBE G. Hygiene indicator microorganisms for selected pathogens on beef, pork, and poultry meats in Belgium. *J. Food Prot.*, 2008, **71**, 35-45.
- GHAFIR Y., CHINA B., KORSACK N., DIERICK K., COLLARD J.-M., GODARD C., DE ZUTTER L., DAUBE G. Belgian surveillance plans to assess changes in *Salmonella* prevalence in meat at different production stages. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 2269-2277.
- GHAFIR Y., DAUBE G. Guide belge en microbiologie des aliments pour les laboratoires accrédités. In: Daube G., Ghafir Y. (Eds.), Proceedings of the fourth conference in food microbiology, 16&17/6/1999, University of Liege. Liege, 1999, 92-104.
- GIBBENS J.C., PASCOE S.J., EVANS S.J., DAVIES R.H., SAYERS A.R. A trial of biosecurity as a means to control *Campylobacter* infection of broiler chickens. *Prev. Vet. Med.*, 2001, **48**, 85-99.
- GILL C.O., JONES T. Microbiological sampling of carcasses by excision or swabbing. *J. Food Prot.*, 2000, **63**, 167-173.
- GUERIN M.T., MARTIN W., REIERSEN J., BERKE O., MCEWEN S.A., BISAILLON J.R., LOWMAN R. A farm-level study of risk factors associated with the colonization of broiler flocks with *Campylobacter* spp. in Iceland, 2001-2004. *Acta Vet Scand*, 2007, **49**, 18.
- HALD B., SKOVGARD H., BANG D.D., PEDERSEN K., DYBDAHL J., JESPERSEN J.B., MADSEN M. Flies and *Campylobacter* infection of broiler flocks. *Emerg. Infect. Dis.*, 2004a, **10**, 1490-1492.
- HALD B., VOSE D., WEGENER H.C., KOUPEEV T. A bayesian approach to quantify the contribution of animal-food sources to human salmonellosis. *Risk. Anal.*, 2004b, **24**, 255-269.
- HALL G., KIRK M.D., BECKER N., GREGORY J.E., UNICOMB L., MILLARD G., STAFFORD R., LALOR K., THE OZFOODNET WORKING GROUP. Estimating foodborne gastroenteritis, Australia. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, **11**, 1257-1264.
- HANES D. Nontyphoid *Salmonella*. In: Miliotis M.D., Bier J.W. (Ed.) International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker: New York, 2003, 137-149.
- HANSSON I.B. Microbiological meat quality in high- and low-capacity slaughterhouses in Sweden. *J. Food Prot.*, 2001, **64**, 820-825.
- HEALTH PROTECTION AGENCY. Provisional Summary 2003. *Communicable diseases (Northern Ireland edition)*, 2004, **12**, 1-44.
- HELMS M., VASTRUP P., GERNER-SMIDT P., MOLBAK K. Short and long term mortality associated with foodborne bacterial gastrointestinal infections: registry based study. *BMJ*, 2003, **326**, 357.
- HERMAN L., HEYNDRIKX M., GRIJSPEERDT K., VANDEKERCHOVE D., ROLLIER I., DE ZUTTER L. Routes for *Campylobacter* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol. Infect.*, 2003, **131**, 1169-1180.
- HERNANDEZ F. A simple and inexpensive method to generate a microaerophilic atmosphere for the isolation of *Campylobacter* sp. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 1996, **38**, 241-242.
- HEUER O.E., PEDERSEN K., ANDERSEN J.S., MADSEN M. Prevalence and antimicrobial susceptibility of thermophilic *Campylobacter* in organic and conventional broiler flocks. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2001, **33**, 269-274.
- HEYNDRIKX M., VANDEKERCHOVE D., HERMAN L., ROLLIER I., GRIJSPEERDT K., DE ZUTTER L. Routes for *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol. Infect.*, 2002, **129**, 253-265.
- HOFSHAGEN M., KRUSE H. Reduction in flock prevalence of *Campylobacter* spp. in broilers in Norway after implementation of an action plan. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 2220-2223.
- HOOD A.M., PEARSON A.D., SHAHAMAT M. The extent of surface contamination of retailed chicken with *Campylobacter jejuni* serogroups. *Epidemiol. Infect.*, 1988, **100**, 17-25.
- HU L., KOPECKO D.J. *Campylobacter* Species. In: Miliotis M.D., Bier J.W. (Ed.) International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker: New York, 2003, 181-198.
- HUMPHREY T.J., MARTIN K.W., SLADER J., DURHAM K. *Campylobacter* spp. in the kitchen: spread and persistence. *J. Appl. Microbiol.*, 2001, 115S-120S.
- HUTCHISON M.L., WALTERS L.D., AVERY S.M., REID C.A., WILSON D., HOWELL M., JOHNSTON A.M., BUNCIC S. A comparison of wet-dry swabbing and excision sampling methods for microbiological testing of bovine, porcine, and ovine carcasses at red meat slaughterhouses. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 2155-2162.
- HUTCHISON M.L., WALTERS L.D., MEAD G.C., HOWELL M., ALLEN V.M. An assessment of sampling methods and microbiological hygiene indicators for process verification in poultry slaughterhouses. *J. Food Prot.*, 2006, **69**, 145-153.
- ICMSF. Microorganisms in foods 5. Characteristics of microbial pathogens. Blackie Academic & Professional: London, 1996, 513 p.
- INGHAM S.C., SCHMIDT D.J. Alternative indicator bacteria analyses for evaluating the sanitary condition of beef carcasses. *J. Food Prot.*, 2000, **63**, 51-55.
- INSTITUT D'EXPERTISE VÉTÉRINAIRE. Rapport d'activités 1999. Ministry of Public Health: Brussels, 2000.
- INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. [en ligne] (10/05/04) Adresse consultée le 23/01/07.
- INSTITUT NATIONAL DE STATISTIQUES. Industrie et construction. Production industrielle prodcom et non-prodcom. Année 2002. Bruxelles, 2004, 146 p.
- JAY J.M., VILAI J.P., HUGHES M.E. Profile and activity of the bacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5-7 degrees C. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **81**, 105-111.
- JORGENSEN F., BAILEY R., WILLIAMS S., HENDERSON P., WAREING D.R., BOLTON F.J., FROST J.A., WARD L., HUMPHREY T.J. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **76**, 151-164.

- JOZWIAK A., REICHART O., LACZAY P. The occurrence of *Campylobacter* species in Hungarian broiler chickens from farm to slaughter. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health*, 2006, **53**, 291-294.
- KEENER K.M., BASHOR M.P., CURTIS P.A., SHELDON B.W., KATHARIOU S. Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2004, **3**, 105-116.
- KORSAK N., DAUBE G., GHAFIR Y., CHAHED A., JOLLY S., VINDEVOGEL H. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. *J. Food Prot.*, 1998, **61**, 535-541.
- KORSAK N., JACOB B., GROVEN B., ETIENNE G., CHINA B., GHAFIR Y., DAUBE G. *Salmonella* contamination of pigs and pork in an integrated pig production system. *J. Food Prot.*, 2003, **66**, 1126-1133.
- KOTULA K.L., DAVIS M.E. Broiler skin sampling for optimum recovery of *Salmonella* spp. *J. Food Prot.*, 1999, **62**, 284-286.
- KOTULA K.L., PANDYA Y. Bacteria contamination of broiler chickens before scalding. *J. Food Prot.*, 1995, **58**, 1326-1329.
- KRAMER J.M., FROST J.A., BOLTON F.J., WAREING D.R. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. *J. Food Prot.*, 2000, **63**, 1654-1659.
- KRAUSS H., WEBER A., APPEL M., ENDERS B., ISENBERG H.D., SCHIEFER H.G., SLENCZKA W., VON GRAEVENITZ A., ZAHNER H. Zoonoses: infectious diseases transmissible from animals to humans. ASM Press: Washington, 2003, 456 p.
- LABADIE J.C., DOUSSET X., HEBRAUD M. Les *Pseudomonas* et autres bactéries Gram - d'altération. In: Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. (Eds.), Microbiologie alimentaire. Tome 1: Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Technique et Documentation: Paris, 1996, 209-220.
- LE MINOR L. Genus III. *Salmonella*. In: Krieg N.R., Holt G.H. (Eds.), Bergey's manual of systematic bacteriology (Volume 1). Williams and Wilkins: Baltimore, 1984, 427-458.
- LEDERGERBER U., REGULA G., STEPHAN R., DANUSER J., BISSIG B., STARK K.D. Risk factors for antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. isolated from raw poultry meat in Switzerland. *BMC Public Health*, 2003, **3**, 39.
- LINDBLAD M., HANSSON I., VAGSHOLM I., LINDQVIST R. Postchill *Campylobacter* prevalence on broiler carcasses in relation to slaughter group colonization level and chilling system. *J. Food Prot.*, 2006, **69**, 495-499.
- LINDBLAD M., LINDMARK H., LAMBERTZ S.T., LINDQVIST R. Microbiological baseline study of swine carcasses at Swedish slaughterhouses. *J. Food Prot.*, 2007, **70**, 1790-1797.
- LINTON D., LAWSON A.J., OWEN R.J., STANLEY J. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, **35**, 2568-2572.
- LOEWENHERZ-LÜNING K., HEITMANN M., HILDERBRANDT G. Survey about the occurrence of *Campylobacter jejuni* in foods of animal origin. *Fleischwirtschaft*, 1996, **76**, 958-961.
- MADDEN R.H., MORAN L., SCATES P. Frequency of occurrence of *Campylobacter* spp. in red meats and poultry in Northern Ireland and their subsequent subtyping using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism and the random amplified polymorphic DNA method. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **84**, 703-708.
- MAJOWICZ S.E., DORE K., FLINT J.A., EDGE V.L., READ S., BUFFETT M.C., MCEWEN S., MCNAB W.B., STACEY D., SOCKETT P., WILSON J.B. Magnitude and distribution of acute, self-reported gastrointestinal illness in a Canadian community. *Epidemiol. Infect.*, 2004, **132**, 607-617.
- MAUDOUX J.P., SAEGERMAN C., RETTIGNER C., HOUINS G., VAN HUFFEL X., BERKVEN D. Food safety surveillance through a risk based control programme: approach employed by the Belgian Federal Agency for the Safety of the Food Chain. *Vet. Q.*, 2006, **28**, 140-154.
- MAYRHOFFER S., PAULSEN P., SMULDERS F.J.M., HILBERT F. Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **97**, 23-29.
- MAZICK A., ETHELBERG S., NIELSEN E.M., MOLBAK K., LISBY M. An outbreak of *Campylobacter jejuni* associated with consumption of chicken, Copenhagen, 2005. *Euro Surveill.*, 2006, **11**, 137-139.
- MCEVOY J.M., SHERIDAN J.J., BLAIR I.S., MCDOWELL D.A. Microbial contamination on beef in relation to hygiene assessment based on criteria used in EU Decision 2001/471/EC. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **92**, 217-225.
- MEAD G.C., HUDSON W.R., HINTON M.H. Microbiological survey of five poultry processing plants in the UK. *Br. Poult. Sci.*, 1993, **34**, 497-503.
- MEAD P.S., SLUTSKER L., DIETZ V., MCCAIG L.F., BRESEE J.S., SHAPIRO C., GRIFFIN P.M., TAUXE R.V. Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 1999, **5**, 607-625.
- MELDRUM R.J., SMITH R.M., WILSON I.G. Three-year surveillance program examining the prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* in whole retail raw chicken. *J. Food Prot.*, 2006, **69**, 928-931.
- MELDRUM R.J., TUCKER I.D., SMITH R.M., EDWARDS C. Survey of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of whole, raw poultry on retail sale in Wales in 2003. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 1447-1449.
- MINISTÈRE DES AFFAIRES SOCIALES DE LA SANTÉ PUBLIQUE ET DE L'ENVIRONNEMENT. Arrêté royal du 28 août 2002 modifiant l'arrêté royal du 4 juillet 1996 relatif aux conditions générales et spéciales d'exploitation des abattoirs et d'autres établissements. *Moniteur belge*, 2002, **14/09/2002**, Ed. 2, 40882-40894.
- MIRAGLIA D., RANUCCI D., D'OVIDIO V., BRANCIARI R., SEVERINI M. Comparison between carcass microbial load recovered by swabbing surfaces of different size and using the reference excision method. *Vet. Res. Commun.*, 2005, **29 Suppl 2**, 339-341.

- MIWA N., TAKEGAHARA Y., TERA K., KATO H., TAKEUCHI T. *Campylobacter jejuni* contamination on broiler carcasses of *C. jejuni*-negative flocks during processing in a Japanese slaughterhouse. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **84**, 105-109.
- MOHAMMED K.A., MILES R.J., HALABLAB M.A. Simple method to grow enteric campylobacters in unsupplemented liquid medium without the need for microaerophilic kits. *J. Microbiol. Methods*, 2005, **61**, 273-276.
- MOORE J.E., WILSON T.S., WAREING D.R., HUMPHREY T.J., MURPHY P.G. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* spp. in ready-to-eat foods and raw poultry in Northern Ireland. *J. Food Prot.*, 2002, **65**, 1326-1328.
- MURRAY K.A., GILMOUR A., MADDEN R.H. Microbiological quality of chilled beef carcasses in Northern Ireland: a baseline survey. *J. Food Prot.*, 2001, **64**, 498-502.
- NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. Health, United States 2004 with chartbook on trends in the health of Americans. Hyattsville, Maryland, 2004, 498 p.
- NATIONAL REFERENCE CENTRE FOR *SALMONELLA* AND *SHIGELLA*. Annual report on human *Salmonella* and *Shigella* in Belgium 2003. Scientific Institute of Public Health: Brussels, 2004, 44 p.
- NATIONAL REFERENCE CENTRE FOR *SALMONELLA* AND *SHIGELLA*, 2006. Annual report on human *Salmonella* and *Shigella* in Belgium 2005. Scientific Institute of Public Health, Brussels, 48 p.
- NESBAKKEN T., ECKNER K., HOIDAL H.K., ROTTERUD O.J. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **80**, 231-240.
- OLSEN J.E., BROWN D.J., MADSEN M., BISGAARD M. Cross-contamination with *Salmonella* on a broiler slaughterhouse line demonstrated by use of epidemiological markers. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **94**, 826-835.
- OOSTEROM J., DE WILDE G.J.A., DE BOER E., DE BLAAUW L.H., KARMAN H. Survival of *Campylobacter jejuni* during poultry processing and pig slaughtering. *J. Food Prot.*, 1983a, **46**, 702-706.
- OOSTEROM J., DEN UYL C.H., BANFFER J.R., HUISMAN J. Epidemiological investigations on *Campylobacter jejuni* in households with a primary infection. *J. Hyg. (Lond.)*, 1983b, **93**, 325-332.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 10273: Microbiologie - Directives générales pour la recherche de *Yersinia enterocolitica* présumées pathogènes. Genève, 1994, 44 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 13720: Viande et produits à base de viande - Dénombrement des *Pseudomonas* spp. Genève, 1995, 12 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 16649-1: Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* bêta-glucuronidase positive - Partie 1: technique de comptage des colonies à 44°C au moyen de membranes et de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl bêta-D glucuronate. Genève, 2001a, 16 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 16654: Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157. Genève, 2001b, 26 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 6579: Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. Genève, 2002, 40 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 4833: Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes: technique de comptage des colonies à 30°C. Genève, 2003a, 18 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 10273: Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche de *Yersinia enterocolitica* présumées pathogènes. Genève, 2003b, 44 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 16140: Microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes alternatives. Genève, 2003c, 85 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 17604: Microbiologie des aliments - Prélèvement d'échantillons sur des carcasses en vue de leur analyse microbiologique. Genève, 2003d, 15 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 21528-2: Microbiologie des aliments - Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* - Partie 2: méthode par comptage des colonies. Genève, 2004, 19 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 17025: Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. International Organization for Standardization: Genève, 2005a, 28 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 22000: Systèmes de management de la sécurité des denrées alimentaires - Exigences pour tout organisme appartenant à la chaîne alimentaire. Genève, 2005b, 35 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 10272-1: Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Campylobacter* spp - Partie 1: méthode de recherche. Genève, 2006, 28 p.
- ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO 7218: Microbiologie des aliments - Exigences générales et recommandations. International Organization for Standardization: Genève, 2007, 69 p.
- PADUNGTOD P., HANSON R., WILSON D.L., BELL J., LINZ J.E., KANEENE J.B. Identification of *Campylobacter jejuni* isolates from cloacal and carcass swabs of chickens in Thailand by a 5' nuclease fluorogenic polymerase chain reaction assay. *J. Food Prot.*, 2002, **65**, 1712-1716.
- PADUNGTOD P., KANEENE J.B. *Campylobacter* in food animals and humans in northern Thailand. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 2519-2526.
- PARLEMENT EUROPÉEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 178/2002 du Parlement européen et du Conseil, du 28 janvier 2002, établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires. *J. Off. Commun. Eur.*, 2002, **L31**, 1-24.

- PARLEMENT EUROPÉEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Directive 2003/99/CE du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques, modifiant la décision 90/424/CEE du Conseil et abrogeant la directive 92/117 du Conseil. *J. Off. Commun. Eur.*, 2003a, **L325**, 31-40.
- PARLEMENT EUROPÉEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur le contrôle des salmonelles et d'autres agents zoonotiques spécifiques présents dans la chaîne alimentaire. *J. Off. Commun. Eur.*, 2003b, **L325**, 1-15.
- PARLEMENT EUROPÉEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil, du 29 avril 2004, relatif à l'hygiène des denrées alimentaires. *J. Off. Commun. Eur.*, 2004a, **L139**, 1-54.
- PARLEMENT EUROPÉEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil, du 29 avril 2004, fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale. *J. Off. Commun. Eur.*, 2004b, **L139**, 55-205.
- PARLEMENT EUROPÉEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil, du 29 avril 2004, fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. *J. Off. Commun. Eur.*, 2004c, **L139**, 206-320.
- PARLEMENT EUROPÉEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. Règlement (CE) n° 882/2004 du Parlement européen et du Conseil, du 29 avril 2004, relatif aux contrôles officiels effectués pour s'assurer de la conformité avec la législation sur les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et avec les dispositions relatives à la santé animale et au bien-être des animaux. *J. Off. Commun. Eur.*, 2004d, **L165**, 1-141.
- PARRY S.M., PALMER S.R., SLADER J., HUMPHREY T. Risk factors for *Salmonella* food poisoning in the domestic kitchen - a case control study. *Epidemiol. Infect.*, 2002, **129**, 277-285.
- PATON J.C., PATON A.W. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin Microbiol Rev*, 1998, **11**, 450-479.
- PEARCE R.A., BOLTON D.J. Excision vs sponge swabbing - a comparison of methods for the microbiological sampling of beef, pork and lamb carcasses. *J. Appl. Microbiol.*, 2005, **98**, 896-900.
- PEARCE R.A., WALLACE F.M., CALL J.E., DUDLEY R.L., OSER A., YODER L., SHERIDAN J.J., LUCHANSKY J.B. Prevalence of *Campylobacter* within a swine slaughter and processing facility. *J. Food Prot.*, 2003, **66**, 1550-1556.
- PEPPERELL R., REID C.A., SOLANO S.N., HUTCHISON M.L., WALTERS L.D., JOHNSTON A.M., BUNCIC S. Experimental comparison of excision and swabbing microbiological sampling methods for carcasses. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 2163-2168.
- PEZZOTTI G., SERAFIN A., LUZZI I., MIONI R., MILAN M., PERIN R. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **82**, 281-287.
- PHILLIPS D., SUMNER J., ALEXANDER J.F., DUTTON K.M. Microbiological quality of Australian beef. *J. Food Prot.*, 2001, **64**, 692-696.
- RANSOM J.R., BELK K.E., BACON R.T., SOFOS J.N., SCANGA J.A., SMITH G.C. Comparison of sampling methods for microbiological testing of beef animal rectal/colonic feces, hides, and carcasses. *J. Food Prot.*, 2002, **65**, 621-626.
- RASSCHAERT G., HOUF K., DE ZUTTER L. External contamination of *Campylobacter*-free flocks after transport in cleaned and disinfected containers. *J. Food Prot.*, 2007, **70**, 40-46.
- RASSCHAERT G., HOUF K., VAN HENDE J., DE ZUTTER L. *Campylobacter* contamination during poultry slaughter in Belgium. *J. Food Prot.*, 2006, **69**, 27-33.
- RAY B. Indicators of bacterial pathogens. In: Ray B. (Ed.) *Fundamental food microbiology*. CRC Press: Boca Raton, 2001, 409-417.
- REITER M.G.R., BUENO C.M.M., LÓPEZ C., JORDANO R. Occurrence of *Campylobacter* and *Listeria monocytogenes* in a poultry processing plant. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 1903-1906.
- RHO M.J., CHUNG M.S., LEE J.H., PARK J. Monitoring of microbial hazards at farms, slaughterhouses, and processing lines of swine in Korea. *J. Food Prot.*, 2001, **64**, 1388-1391.
- ROBIN-BROWNE R.M., HARTLAND E.L. *Yersinia* species. In: Miliotis M.D., Bier J.W. (Ed.) *International Handbook of Foodborne Pathogens*. Marcel Dekker: New York, 2003, 323-355.
- ROSENQUIST H., NIELSEN N.L., SOMMER H.M., NORRUNG B., CHRISTENSEN B.B. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **83**, 87-103.
- RUTTENS F., 2000. Personal communication.
- SCALLAN E., FITZGERALD M., COLLINS C., CROWLEY D., DALY L., DEVINE M., IGOE D., QUIGLEY T., ROBINSON T., SMYTH B. Acute gastroenteritis in northern Ireland and the Republic of Ireland: a telephone survey. *Commun. Dis. Public Health*, 2004, **7**, 61-67.
- SCANGA J.A., GRONA A.D., BELK K.E., SOFOS J.N., BELLINGER G.R., SMITH G.C. Microbiological contamination of raw beef trimmings and ground beef. *Meat Sci.*, 2000, **56**, 145-152.
- SCHERER K., BARTELT E., SOMMERFELD C., HILDEBRANDT G. Comparison of different sampling techniques and enumeration methods for the isolation and quantification of *Campylobacter* spp. in raw retail chicken legs. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **108**, 115-119.
- SERVICE PUBLIC FÉDÉRAL SANTÉ PUBLIQUE S.D.L.C.A.E.E. Arrêté royal du 24 mai 2006 concernant une dérogation transitoire à la valeur du critère microbiologique pour *Salmonella* dans certaines denrées alimentaires. *Moniteur belge*, 2006, **31/05/2006**, Ed. 3, 28602-28604.
- SMIBERT R.M. Genus *Campylobacter*. In: Krieg N.R., Holt G.H. (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Volume 1). Williams and Wilkins: Baltimore, 1984, 111-118.

- SMITH D.P., CASON J.A., BERRANG M.E. Effect of fecal contamination and cross-contamination on numbers of coliform, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, and *Salmonella* on immersion-chilled broiler carcasses. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 1340-1345.
- SOFOS J.N., KOICHEVAR S.L., BELLINGER G.R., BUEGE D.R., HANCOCK D.D., INGHAM S.C., MORGAN J.B., REAGAN J.O., SMITH G.C. Sources and extent of microbiological contamination of beef carcasses in seven United States slaughtering plants. *J. Food Prot.*, 1999a, **62**, 140-145.
- SOFOS J.N., KOICHEVAR S.L., REAGAN J.O., SMITH G.C. Incidence of *Salmonella* on beef carcasses relating to U.S. meat and poultry inspection regulations. *J. Food Prot.*, 1999b, **62**, 467-473.
- SOULTOS N., KOIDIS P., MADDEN R.H. Presence of *Listeria* and *Salmonella* spp. in retail chicken in Northern Ireland. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2003, **37**, 421-423.
- STERN N.J., HIETT K.L., ALFREDSSON G.A., KRISTINSSON K.G., REIERSEN J., HARDARDOTTIR H., BRIEM H., GUNNARSSON E., GEORGSSON F., LOWMAN R., BERNDTSON E., LAMMERDING A.M., PAOLI G.M., MUSGROVE M.T. *Campylobacter* spp. in Icelandic poultry operations and human disease. *Epidemiol. Infect.*, 2003, **130**, 23-32.
- STOCK K., STOLLE A. Incidence of *Salmonella* in minced meat produced in a European Union-approved cutting plant. *J. Food Prot.*, 2001, **64**, 1435-1438.
- SUMNER J., PETRENAS E., DEAN P., DOWSETT P., WEST G., WIERING R., RAVEN G. Microbial contamination on beef and sheep carcasses in South Australia. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **81**, 255-260.
- SWANENBURG M., URLINGS H.A., SNIJDERS J.M., KEUZENKAMP D.A., VAN KNAPEN F. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **70**, 243-254.
- THORBERG B.M., ENGVALL A. Incidence of *Salmonella* in five Swedish slaughterhouses. *J. Food Prot.*, 2001, **64**, 542-545.
- TIRADO C., SCHMIDT K. WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications: preliminary results and trends across greater Europe. World Health Organization. *J. Infect.*, 2001, **43**, 80-84.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Food safety and inspection service, Nationwide pork microbiological baseline data collection program: market hogs (April 1995 - March 1996). [en ligne] Adresse http://www.fsis.usda.gov/Science/Baseline_Data/index.asp, consultée le 31/08/2007.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Food safety and inspection service, U.S. Pathogen reduction: hazard analysis and critical control point (HACCP) systems, final rule. *Fed. Regist.*, 1996, **61**, 38805-38989.
- UYTTENDAELE M., BAERT K., GHAFIR Y., DAUBE G., DE ZUTTER L., HERMAN L., DIERICK K., PIERARD D., DUBOIS J.J., HORION B., DEBEVERE J. Quantitative risk assessment of *Campylobacter* spp. in poultry based meat preparations as one of the factors to support the development of risk-based microbiological criteria in Belgium. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **111**, 149-163.
- UYTTENDAELE M., DE TROY P., DEBEVERE J. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *J. Food Prot.*, 1999, **62**, 735-740.
- UYTTENDAELE M.R., DEBEVERE J.M., LIPS R.M., NEYTS K.D. Prevalence of *Salmonella* in poultry carcasses and their products in Belgium. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, **40**, 1-8.
- VAN DUYNHOVEN Y.T.H.P., DE JAGER C.M., KORTBEEK L.M., VENNEMA H., KOOPMANS M.P.G., VAN LEUSDEN F., VAN DER POEL W.H.M., VAN DEN BROEK J.M. A one-year intensified study of outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *Epidemiol. Infect.*, 2004, **1**, 1-13.
- VAN NIEROP W., DUSE A.G., MARAIS E., AITHMA N., THOTHOBOLO N., KASSEL M., STEWART R., POTGIETER A., FERNANDES B., GALPIN J.S., BLOOMFIELD S.F. Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005, **99**, 1-6.
- VAN OVERBEKE I., DUCHATEAU L., DE ZUTTER L., ALBERS G., DUCATELLE R. A comparison survey of organic and conventional broiler chickens for infectious agents affecting health and food safety. *Avian Dis.*, 2006, **50**, 196-200.
- VANDAMME P., VANDOORN L.J., ALRASHID S.T., QUINT W.G.V., VANDERPLAS J., CHAN V.L., ON S.L.W. *Campylobacter hyoilei* Alderton et al. 1995 and *Campylobacter coli* Veron and Chatelain 1973 are subjective synonyms. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1997, **47**, 1055-1060.
- VANDERLINDE P., JENSON I., SUMNER J. Using national microbiological data to set meaningful performance criteria for slaughter and dressing of animals at Australian export abattoirs. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005, **104**, 155-159.
- VANDERLINDE P.B., SHAY B., MURRAY J. Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. *J. Food Prot.*, 1998, **61**, 437-443.
- VELLINGA A., VAN LOOCK F. The dioxin crisis as experiment to determine poultry-related *Campylobacter* enteritis. *Emerg. Infect. Dis.*, 2002, **8**, 19-22.
- VERBELEN V., BODEUS M., GARRINO M.G., SCIPIONI A., KABAMBA B., DAUBE G., THIRY E., GOUBAU P. Hospital outbreak of gastroenteritis due to Norovirus in Belgium. *Acta Clin. Belg.*, 2004, **59**, 30-33.
- WALLACE D.J., VAN GILDER T., SHALLOW S., FIORENTINO T., SEGGER S.D., SMITH K.E., SHIFERAW B., ETZEL R., GARTHRIGHT W.E., ANGULO F.J. Incidence of foodborne illnesses reported by the foodborne diseases active surveillance network (FoodNet)-1997. FoodNet Working Group. *J. Food Prot.*, 2000, **63**, 807-809.
- WARE L.M., KAIN M.L., SOFOS J.N., BELK K.E., SMITH G.C. Comparison of sponging and excising as sampling procedures for microbiological analysis of fresh beef-carcass tissue. *J. Food Prot.*, 1999, **62**, 1255-1259.
- WEGENER H.C., HALD T., LO FO WONG D., MADSEN M., KORSGAARD H., BAGER F., GERNER-SMIDT P., MOLBAK K. *Salmonella* control programs in Denmark. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003, **9**, 774-780.

- WHYTE P., MCGILL K., COWLEY D., MADDEN R.H., MORAN L., SCATES P., CARROLL C., O'LEARY A., FANNING S., COLLINS J.D., MCNAMARA E., MOORE J.E., CORMICAN M. Occurrence of *Campylobacter* in retail foods in Ireland. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **95**, 111-118.
- WILSON I.G. *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of raw retail chickens from different producers: a six year survey. *Epidemiol. Infect.*, 2002, **129**, 635-645.
- WILSON I.G. Antibiotic resistance of *Campylobacter* in raw retail chickens and imported chicken portions. *Epidemiol. Infect.*, 2003, **131**, 1181-1186.
- WORKING GROUP ON FOODBORNE INFECTIONS AND INTOXICATIONS. Trends and sources 2004: Report on zoonotic agents in Belgium in 2004. Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, Institut scientifique de santé publique, Centre de recherche vétérinaire et agrochimique: Bruxelles, 2006, 90 p.
- WORKING GROUP ON FOODBORNE INFECTIONS AND INTOXICATIONS. Trends and sources 2005: Report on zoonotic agents in Belgium in 2005. Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, Institut scientifique de santé publique, Centre de recherche vétérinaire et agrochimique: Bruxelles, 2007, 122 p.
- WORKING GROUP ON FOODBORNE INFECTIONS AND INTOXICATIONS. Trends and sources 2006: Report on zoonotic agents in Belgium in 2006. Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, Institut scientifique de santé publique, Centre de recherche vétérinaire et agrochimique: Bruxelles, 2008, 126 p.
- WYBO I., WILDEMAUWE C., GODARD C., BERTRAND S., COLLARD J.-M. Antimicrobial drug resistance in nontyphoid human *Salmonella* in Belgium: trends for the period 2000-2002. *Acta Clin. Belg.*, 2004, **59**, 152-170.
- YEH K.S., CHEN S.P., LIN J.H. One-year (2003) nationwide pork carcass microbiological baseline data survey in Taiwan. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 458-461.
- YU S.L., COOKE P.H., TU S.I. Effects of chilling on sampling of bacteria attached to swine carcasses. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2001, **32**, 205-210.
- ZANETTI F., VAROLI O., STAMPI S., DELUCA G. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* and *Arcobacter butzleri* in food of animal origin. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **33**, 315-321.
- ZHAO C., GE B., DE VILLENA J., SUDLER R., YEH E., ZHAO S., WHITE D.G., WAGNER D., MENG J. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the Greater Washington, D.C. area. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, **67**, 5431-5436.